

SÉRIE A. N° 253.

N° D'ORDRE :

277

THÈSES

PRÉSENTÉES

à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PAR

Mlle Avigael KRAMER,

INGÉNIEUR-CHIMISTE I. C. T.

**1^{re} Thèse : Contribution à l'étude des hétérosides
de *Kalmia latifolia* L. et de *Philyrea latifolia* L.**

2^e Thèse : Structure physique de la membrane cellulaire.

Soutenues le

1933 devant la Commission d'Examen

Président : M. GABRIEL BERTRAND.

Examineurs : { Mme RAMART-LUCAS.
M. R. COMBES.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME.

1933

THÈSES

PRÉSENTÉES

à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PAR

Mlle Avigael KRAMER,

INGÉNIEUR-CHIMISTE 1. C. T.

**1^{re} Thèse : Contribution à l'étude des hétérosides
de *Kalmia latifolia* L. et de *Philyrea latifolia* L.**

2^e Thèse : Structure physique de la membrane cellulaire.

Soutenues le

1933 devant la Commission d'Examen

Président : M. GABRIEL BERTRAND.

Examineurs : { Mme RAMART-LUCAS.
M. R. COMBES.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME,

—
1933

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen..... C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.
Doyen honoraire..... M. MOLLIARD.

Professeurs honoraires.

H. LE CHATELIER.
H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
A. LEDUC.
Léon BRILLOUIN.
A. DEREIMS.
EMILE PICARD.
Remy PERRIER.

E. GOURSAT..... Analyse supérieure et algèbre supérieure
P. JANET..... Electrotechnique générale.
F. WALLERANT..... Minéralogie.
P. PAINLEVÉ..... Mécanique analytique et mécan. céleste.
M. CAULLERY..... Zoologie (Evolution des êtres organisés).
Emile BOREL..... Calcul des probabilités et Phys. mathém.
H. ABRAHAM..... Physique.
M. MOLLIARD..... Physiologie végétale.
E. CARTAN..... Géométrie supérieure.
Gabriel BERTRAND..... Chimie biologique.
Jean PERRIN..... Chimie physique.
L. LAPICQUE..... Physiologie générale.
M^{me} P. CURIE..... Physique générale et radioactivité.
G. URBAIN..... Chimie générale.
L. MARCHIS..... Aviation.
E. VESSIOT..... Théorie des fonctions et théorie des transformations.

Professeurs.....

A. COTTON..... Physique générale.
J. DRACH..... Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY..... Physique.
R. LESPIEAU..... Théories chimiques.
P. PORTIER..... Physiologie comparée.
Charles PÉREZ..... Zoologie.
E. BLAISE..... Chimie organique.
P.-A. DANGEARD..... Botanique.
Léon BERTRAND..... Géologie structurale et géologie appliquée.
E. RABAUD..... Biologie expérimentale.
G. JULIA..... Calcul différentiel et calcul intégral.
P. MONTEL..... Mécanique rationnelle.
V. AUGER..... Chimie appliquée.
P. WINTREBERT..... Anatomie et histologie comparées.
O. DUBOSQ..... Biologie maritime.
Eugène BLOCH..... Physique théorique et physique céleste.
N..... Etude des combustibles.
L. LUTAUD..... Géographie physique et géologie dynamique.
Henri VILLAT..... Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB..... Géologie.
P. PASCAL..... Chimie minérale.
E. ESCLANGON..... Astronomie.
H. BÉNARD..... Mécanique expérimentale des fluides.
MAUGUIN..... Minéralogie.
L. BLARINGHEM..... Botanique.
A. GUILLIERMOND..... Botanique (P. C. N.).
A. DENJOY..... Mathématiques générales.
A. DUFOUR..... Physique (P. C. N.).
BÉGHIN..... Mécanique théorique des fluides.
DE BROGLIE..... Théories physiques.



E. PÉCHARD..... Chimie (Enseigt P. C. N.)
A. GUILLET..... Physique.
M. GUICHARD..... Chimie minérale.
A. MICHEL-LÉVY..... Pétrographie.
H. MOUTON..... Chimie physique.
L. DUNOYER..... Optique appliquée.
M. JAVILLIER..... Chimie biologique.
ROBERT LÉVY..... Zoologie.
A. DEBIERNE..... Radioactivité.
E. DARMOIS..... Physique.
G. BRUHAT..... Physique.
F. PICARD..... Zoologie (Evolution des êtres organisés).
L. JOLEAUD..... Paléontologie.
M. FRÉCHET..... Calcul des Probabilités et Physique mathématique
FOCH..... Mécanique expérimentale des fluides.

M^{me} RAMART-LUCAS..... Chimie organique.
PAUTHENIER..... Physique (P. C. N.).
VILLEY..... Mécanique physique et expérimentale.
LABROUSTE..... Physique du Globe.
FREUNDLER..... Chimie (P. C. N.).
PRENANT..... Zoologie.
P. JOB..... Chimie générale.
CHRÉTIEN..... Optique appliquée.
BOURGUEL..... Chimie (P. C. N.).
COMBES..... Sciences naturelles (P. C. N.).
GARNIER..... Mécanique rationnelle.
PÉRÈS..... Mécanique des fluides.
LAUGIER..... Physiologie générale.
TOUSSAINT..... Technique Aéronautique
HACKSPILL..... Chimie (P. C. N.).

Secrétaire..... A. PACAUD.
Secrétaire honoraire..... D. TOMBECK.

A LA MÉMOIRE DE MON REGRETTÉ MAITRE

LE PROFESSEUR MARC BRIDEL.

PROFESSEUR AU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE,
PHARMACIEN EN CHEF DE L'HOPITAL LARIBOISIÈRE,
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

A LA MEMOIRE DE MA SCEUR.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GABRIEL BERTRAND,

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES,
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE ET DE L'ACADÉMIE D'AGRICULTURE,
PROFESSEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES,
CHEF DE SERVICE A L'INSTITUT PASTEUR.

Hommage de respectueuse reconnaissance.

TABLE DES MATIÈRES.

Introduction.....	1
Première partie. — Etude biochimique de <i>Kalmia latifolia</i> L. ; l'asébotoside	3
CHAPITRE I. — Travaux effectués sur le <i>Kalmia lati-</i> <i>folia</i> L. et l'asébotoside.....	3
CHAPITRE II.— Essais biochimiques sur les différents organes de <i>Kalmia latifolia</i> L.....	8
CHAPITRE III.— L'asébotoside.....	14
CHAPITRE IV.— Etude comparative du phlorizoside et de l'asébotoside.....	27
Deuxième partie. — Etude du <i>Philyrea latifolia</i> L.....	33
CHAPITRE I. — Travaux antérieurs sur le <i>Philyrea lati-</i> <i>folia</i> L. et le philyroside (philyrine).....	33
CHAPITRE II.— Essais biochimiques de différents organes de <i>Philyrea latifolia</i> L.....	36
CHAPITRE III.— Le philyroside.....	39
CHAPITRE IV.— Etude du « phileoside » et son identifi- cation avec le syringoside.....	57
Conclusions.....	73
Bibliographie.....	77

INTRODUCTION.

Ainsi que l'a montré le Professeur BRIDEL en 1930 [19], le phlorizoside, hétéroside de l'écorce de Pommier, et l'asébotoside, hétéroside du *Kalmia latifolia* L., sont hydrolysables par l'émulsine des amandes. La constitution du phlorizoside est bien connue, elle découle de très nombreux travaux effectués sur ce principe immédiat et sur le phlorétol, son produit de dédoublement non glucidique [24, 26, 29-37, 39, 41, 42, 47, 49-55, 57-59, 61-67, 69-71].

Il n'en est pas de même de celle de l'asébotoside. Cet hétéroside, extrait par Em. BOURQUELOT et Mlle FICHTENHOLZ en 1912 [17] des feuilles de *Kalmia latifolia* L., a été identifié par ces auteurs [18] avec l'asébotoside (asébotine d'EYKMANN). En 1883, EYKMANN a isolé [28] l'asébotoside et a déterminé sa composition centésimale. Il considère l'asébotoside comme étant un produit anhydre, tandis que BOURQUELOT et FICHTENHOLZ ont trouvé 6,9 p. 100 d'eau de cristallisation. La vérification de la formule s'imposait, ainsi que l'étude complète de sa constitution chimique.

Au cours de ce travail, nous avons été frappés par la ressemblance de certaines propriétés de l'asébotoside et du phlorizoside (phlorizine). Nous avons alors préparé ce dernier corps à partir de l'écorce de pommier. Les deux produits purifiés de la même manière nous ont permis une étude comparative de leurs propriétés. Nous avons pu démontrer l'identité complète des deux hétérosides.

Le Professeur BRIDEL, poursuivant l'étude des hétérosides réputés comme non hydrolysables par l'émulsine, avait également l'intention d'essayer l'action de ce ferment sur le philyroside. Le philyroside (philyrine) est l'hétéroside découvert en 1836 par CARBONCELLI [22, 23] dans trois espèces de *Philyrea*. Il renfermerait du glucose.

Après de nombreux essais d'extraction infructueux, nous avons pu retirer le philyroside du *Philyrea latifolia* L. et nous avons étudié ce corps et ses produits de dédoublement.

Nous avons pu prouver que le philyroside est bien hydrolysable par l'émulsine des amandes, et nous avons étudié en même temps sa composition chimique.

Nous avons également pu isoler un deuxième hétéroside contenu dans l'écorce et les feuilles de *Philyrea latifolia* L. ; nous l'avons identifié avec le syringoside (syringine).

Le *Philyrea latifolia* L. étant peu répandu dans la région parisienne, nous avons eu beaucoup de difficultés pour trouver assez de matière première pour l'étude des hétérosides qu'il contient. Nous avons été obligé d'arrêter notre étude avant d'avoir établi la formule de constitution du philyroside.

Ce travail a été entrepris au Laboratoire de Physique Végétale du Museum d'Histoire Naturelle, sous la direction bienveillante du regretté Professeur BRIDEL. J'ai connu, au cours de mes recherches, la bonté profonde de ce Maître distingué, la patience, la cordialité, l'intérêt exceptionnel qu'il portait à chacun de ses élèves. C'est grâce à ses conseils précieux et aux méthodes qu'il m'a données au début de mes recherches que j'ai pu mener à bien ce travail.

Qu'il me soit permis d'exprimer ici ma profonde reconnaissance à la mémoire de ce Maître regretté.

Je remercie Madame RAMART-LUCAS, Professeur à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris, pour la grande bienveillance qu'elle m'a témoignée.

J'exprime à M. le Professeur Gabriel BERTRAND, ma vive reconnaissance pour l'aimable accueil qu'il m'a réservé et pour l'honneur qu'il me fait en acceptant la présidence de cette soutenance de thèse.

J'adresse aussi mes remerciements à M. J. RABATÉ, Sous-Directeur au Laboratoire de Physique Végétale, qui m'a fait profiter de ses excellents conseils et de son amicale cordialité.

Après la disparition de notre Maître, il m'a constamment encouragé dans mon travail.

Il m'est particulièrement agréable de témoigner à Mademoiselle C. BOURDOUIL, Assistante de notre laboratoire, mes remerciements pour son aide amicale au cours de mon travail.

PREMIÈRE PARTIE.

Etude biochimique de *Kalmia latifolia* L.

L'ASÉBOTOSIDE.

CHAPITRE I.

Travaux effectués sur le *Kalmia latifolia* L. et l'asébotoside.

Le *Kalmia latifolia* L. est un arbuste de la famille des Ericacées originaire des Etats-Unis d'Amérique.

Il possède une racine irrégulièrement ramifiée donnant immédiatement au-dessus de la surface des rejets s'enfonçant profondément dans le sol.

Les feuilles sont longuement pétiolées, clairsemées, ternes, ovales et lisses sur les deux faces.

Les fleurs, de couleur rose ou blanche, sont groupées en corymbes terminaux ; la corolle est rotacée. Le calice est persistant en forme de roue. Il est divisé en cinq parties. 10 étamines sont placées à la base de la corolle. Il y a un seul style persistant. La capsule est divisée en cinq loges, à 5 valves alternant avec les divisions du calice.

Le *Kalmia latifolia* L. est utilisé en France comme plante d'ornement.

Les feuilles sont considérées comme possédant des qualités thérapeutiques remarquables, observées déjà par les indigènes et attribuées à la présence d'une huile volatile par STABLER

(1844) [68] qui fut le premier à étudier la composition chimique de cette plante.

Il n'a pu isoler ni l'essence dont il supposait la présence, ni aucun autre principe immédiat déterminé. Il a signalé, sans les préciser, des matières tanniques et résineuses, de la chlorophylle, une matière colorante jaune, des sels de potassium et de calcium.

Une étude chimique plus approfondie a été faite par BULLOCK (1848) [21] dans le but de rechercher un alcaloïde.

Cet auteur a admis que le principe actif du *Kalmia latifolia* L. était un alcaloïde du groupe de la quinine. Toutes ces recherches effectuées en vue d'isoler cet alcaloïde sont restées vaines, ainsi que celles concernant l'essence signalée par STABLER.

L'extraction à l'alcool bouillant a permis à cet auteur d'isoler une substance blanche, amorphe, légèrement sucrée, peu soluble dans l'eau et dans l'ester acétique. BULLOCK l'a caractérisée comme une substance semblable au mannitol.

Il a pu également isoler une matière colorante fortement astringente. L'auteur lui attribue la saveur astringente de la plante entière.

L'arbutoside (arbutine) étant assez fréquent dans les plantes de la famille des Ericacées, KENNEDY (1875 [40]) a supposé que la substance blanche obtenue par BULLOCK était de l'arbutoside. Il a essayé l'extraction de cette substance par le procédé de KAVALIER, en opérant sur trois livres de feuilles fraîches. Il a pu obtenir un produit cristallisé, mais en proportions si faibles qu'il était impossible de séparer les cristaux des eaux-mères.

KENNEDY prétend que c'est de l'arbutoside. Ses affirmations se basent surtout sur la réaction de JUNGSMANN — coloration bleue par l'acide phosphomolybdique, ajouté à une solution diluée de la substance rendue alcaline par l'addition d'ammoniaque. Cette réaction n'est pas spécifique : elle est donnée par des nombreux corps à fonction réductrice.

BOURQUELOT et Mlle FICHTENHOLZ (1912) [17] ont étudié la constitution chimique des feuilles de *Kalmia* et sont arrivés à en extraire un hétéroside ; ils ont identifié ce dernier avec l'asébotoside (asébotine) d'EYKMAN, isolé par cet auteur en 1883, des feuilles d'*Andromeda japonica* Thunb [27]. EYKMAN prépare une décoction aqueuse des feuilles qu'il épuise par le chloroforme pour en extraire le principe toxique (Andromédo-toxine). La décoction aqueuse, épuisée par le chloroforme, est dé-

féquée par l'acétate de plomb. La solution filtrée et débarrassée du plomb est concentrée en sirop dans lequel le produit cristallise. Le rendement est de 4 g.,15 par kg. de feuilles fraîches.

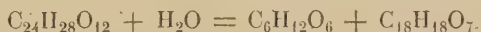
D'après EYKMAN, l'asébotoside est une substance cristallisée en aiguilles incolores et inodores, d'un beau reflet, ne contenant pas d'eau de cristallisation et fondant à $+ 147^{\circ},5$. Il n'aurait pas de propriétés toxiques : une injection sous-cutanée de 5 mg. ne produit aucune réaction chez un Lapin de 1.200 g.

Sa solubilité dans l'eau froide, le chloroforme, l'éther anhydre est très faible. Par contre, il se dissout facilement dans l'eau chaude, l'alcool et l'acide acétique, ainsi que dans les solutions alcalines même diluées. Il précipite de ces dernières par addition d'un acide. Exposé sous une cloche à des vapeurs d'ammoniaque, il donne une coloration brun-rouge, très intense.

Les acides minéraux dilués hydrolysent, à $+ 100^{\circ}$, l'asébotoside en donnant naissance à une substance cristallisée en fines aiguilles, très peu soluble dans l'eau chaude ou froide et dans le chloroforme, soluble dans l'alcool, l'éther et les solutions alcalines. EYKMAN a appelé cette substance asébogénine. Nous dirons maintenant asébogénol pour nous conformer à la nouvelle nomenclature. L'asébotoside fournit 62,7 à 65,9 p. 100 d'asébogénol.

Le liquide d'hydrolyse contient un sucre réducteur qui n'a pas été isolé, mais dont le pouvoir réducteur correspond à celui du glucose. L'asébotoside fournit 36,2 p. 100 de glucose.

La formule brute serait $C_{24}H_{28}O_{12}$ et celle de l'asébogénol $C_{18}H_{18}O_7$. L'équation d'hydrolyse serait :



EYKMAN reconnaît qu'il y a une certaine ressemblance entre l'asébotoside et le phlorizoside (phlorizine). La composition de ces deux substances diffère de 2 H_2O . Il n'admet pas leur identité à cause d'une différence dans les réactions avec les vapeurs d'ammoniaque : tandis que le phlorizoside donne un colorant d'un beau violet pourpre, le phlorizéate d'ammonium, l'asébotoside donne dans les mêmes conditions, une coloration rouge-brun.

D'après M. BOURQUELOT et Mlle FICHTENHOLZ [17, 18] l'asébotoside possède une saveur crayeuse qui devient bientôt légèrement sucrée, puis amère. Il présente deux points de fusion. Chauffé dans un tube effilé, il se contracte vers $+ 112^{\circ}$, puis il

se rassemble en une masse molle translucide qui se solidifie pour fondre nettement à $+ 154^{\circ}$.

Il perd 6,9 p. 100 d'eau, à $+ 105^{\circ}$ - 110° , alors qu'EYKMANN le considère comme anhydre. Il est lévogyre $\alpha_D = -59^{\circ},1$, en solution dans l'alcool à 50° , (à cause de sa très faible solubilité dans l'eau).

Il donne une très belle coloration rouge par le perchlorure de fer. Exposé aux vapeurs d'ammoniaque, il donne une coloration violet pourpre, alors qu'EYKMANN signale une coloration brun-rouge. Nous reviendrons plus loin sur ces différences.

La solubilité de l'asébotoside dans l'alcool augmente avec le titre de l'alcool :

100 g. d'alcool à 10° dissolvent 0 g.,273 d'asébotoside.

100 g. d'alcool à 20° dissolvent 0 g.,567 d'asébotoside.

100 g. d'alcool à 50° dissolvent 10 g.,00 d'asébotoside.

Le sucre d'hydrolyse a été obtenu à l'état cristallisé et caractérisé comme glucose-*d* par sa forme cristalline et son pouvoir rotatoire.

M. BRIDEL [19] a réalisé en 1930, l'hydrolyse de l'asébotoside par l'émulsine des amandes. Il opère avec une suspension de 2 g. d'asébotoside et 1 g. d'émulsine dans 100 cm³ d'eau. En quarante jours, il s'est formé 37,7 p. 100 de sucre réducteur. Le glucose est obtenu à l'état cristallisé et caractérisé par son pouvoir réducteur et son pouvoir rotatoire.

L'asébotoside doit donc être rangé dans la classe des glucosides β hydrolysables par la glucosidase β .

Rappelons que dans le même travail, M. BRIDEL [19] a montré que, contrairement à l'opinion admise jusqu'ici, [33, 52], le phlorizoside était également hydrolysable par l'émulsine des amandes et devait, lui aussi, être rangé dans la classe des glucosides β .

Une étude complète de la constitution de l'asébotoside s'imposait donc. Nous l'avons entreprise et nous donnons dans ce travail les résultats obtenus.

On trouvera d'abord, la préparation de l'asébotoside pur et ses propriétés physiques et chimiques, puis son hydrolyse sulfurique et son hydrolyse par l'émulsine à $+ 30^{\circ}$ et $+ 50^{\circ}$. Nous donnerons ensuite les propriétés du produit non glucidique formé au cours de ces hydrolyses, l'asébogénol, puis sa constitution telle qu'elle découle de son hydrolyse par la baryte,

Les produits obtenus par hydrolyse barytique, (phloroglucinol et acide p. hydrocoumarique) étant les mêmes que ceux qu'on obtient au cours de l'hydrolyse barytique du phlorétol, une comparaison attentive de l'asébotoside et du phlorizoside était nécessaire.

Nous avons fait cette comparaison. Elle nous permet de conclure que l'asébogénol et le phlorétol sont identiques et que asébotoside et phlorizoside ne sont qu'un seul et même principe immédiat.

CHAPITRE II.

Essais biochimiques sur les différents organes du *Kalmia latifolia* L.

Les plantes cueillies le 13 février à Versailles sont traitées au laboratoire le 14 février.

On applique la méthode biochimique classique de BOURQUELOT [10, 11, 12, 13] à l'étude des différents organes de la plante. Les résultats obtenus sont réunis dans le *tableau I* (voir page 12). Ils correspondent à un liquide dont 100 cm³ représentent 100 g. de matière fraîche.

A. — Etude des branches.

Les rameaux frais sont séparés des grosses branches et traités à part. Les branches sont écorcées au couteau, et les essais sont effectués sur l'écorce seulement.

Les essais sont réalisés de la façon suivante :

Les rameaux sont traités par cinq fois leur poids d'alcool bouillant à 90°, pendant 20 minutes. L'alcool d'épuisement décanté, les rameaux sont passés au hachoir universel et traités de la même façon avec de nouvel alcool. Les liqueurs alcooliques réunies sont distillées à sec sous pression réduite. Le résidu de la distillation est repris par de l'eau toluénée. Chaque prise d'essai destinée aux lectures polarimétriques et aux dosages de sucre réducteur est partiellement déféquée par le sous-acétate de plomb au demi et par le sulfate de sodium.

L'écorce est traitée de la même manière.

En examinant les résultats obtenus avec les rameaux, on voit que sous l'action de la sucrase, il se produit un changement de déviation vers la gauche de 1°1', et que le sucre réducteur, exprimé en glucose, augmente de 1 g.,981 p. 100 cm³. L'indice de réduction, 971, est très éloigné de celui du saccharose qui est de 604.

Sous l'action de l'émulsine, le retour de déviation vers la droite est de 57' ; la quantité de sucre réducteur formé, exprimé en glucose, est de 0,170 p. 100 cm³. L'indice de réduction est de 180.

Dans l'écorce, il se produit sous l'action de la sucrase un changement de déviation vers la gauche de 29' ; le sucre réducteur exprimé en glucose augmente de 0,485 p. 100 cm³. L'indice de réduction est de 1.004.

Sous l'action de l'émulsine, le retour de déviation vers la droite est de 20' ; la quantité de sucre réducteur, exprimé en glucose, est de 0,055. L'indice de réduction est de 166.

En comparant entre eux les résultats obtenus avec les rameaux entiers et l'écorce, on voit que la quantité de sucre formé dans cette dernière est sensiblement deux fois moins forte que dans les premiers. Les valeurs des indices de réduction sont très rapprochées. Les principes hydrolysables par l'émulsine et la sucrase sont donc les mêmes dans les grosses branches et dans les rameaux.

Les branches de *Kalmia latifolia* L. renferment une forte proportion de sucres hydrolysables par la sucrase. La quantité de produit hydrolysable par l'émulsine est beaucoup plus faible.

Rappelons que l'indice de réduction enzymolytique obtenu par Em. BOURQUELOT et A. FICHTENHOLZ [17] dans leurs essais biochimiques des feuilles est de 360. Les branches ne doivent donc pas renfermer le même principe que les feuilles.

B. — Etude biochimique des racines.

Les racines fraîches sont coupées et traitées à deux reprises par l'alcool bouillant à 90°. L'extrait obtenu par distillation est repris par l'eau toluénée et examiné comme dans l'étude des branches. Les résultats obtenus sont exprimés dans le *tableau I* (voir page 12).

Après l'action de la sucrase, on observe un changement de déviation de 40' vers la gauche. Le sucre réducteur, exprimé en glucose, augmente de 0 g.,407 pour 100 cm³. L'indice de réduction est de 611, très rapproché de celui de saccharose.

L'émulsine produit un changement de déviation de 31' vers la droite. Il se forme 0,161 de sucre réducteur pour 100 cm³. L'indice de réduction est de 319, assez voisin de celui qui fut

trouvé par Em. BOURQUELOT et A. FICHTENHOLZ au cours de leurs essais des feuilles. Il est donc probable que les racines renferment une faible quantité de l'hétéroside existant dans les feuilles.

Une autre série d'essais biochimiques à l'invertine, l'émulsine et la rhamnodiastase est effectuée sur les plantes en floraison. Il faut noter que l'action de la rhamnodiastase est nulle.

Nous avons traité séparément les bourgeons, les fleurs et les feuilles.

C. — Etude des bourgeons.

200 g. de bourgeons frais sont traités comme dans les essais précédents. Les résultats obtenus sont réunis dans le *tableau I* (voir page 12).

La sucrase provoque dans les bourgeons un recul de déviation vers la gauche de 2°. En même temps il se forme 1 g.,291 de sucre réducteur, ce qui permet de calculer un indice de réduction de 643, assez voisin de celui de saccharose.

Par contre, le changement, provoqué par l'émulsine est très faible — une déviation de 4' pour 0 g.,011 de sucre réducteur, exprimé en glucose. L'indice de réduction est de 169, très rapproché de celui obtenu dans l'étude des branches.

D. — Fleurs.

100 g. de fleurs fraîches sont traités pendant 20 minutes par 500 cm³ d'alcool à 90° bouillant. Après la décantation de l'alcool, le marc est essoré, haché et traité de nouveau par l'alcool. Les liqueurs alcooliques sont distillées à sec sous pression réduite. L'extrait lavé à l'éther, est repris à 100 cm³ d'eau toluénée.

Un dépôt cristallin considérable s'étant formé dans le liquide refroidi, on n'a pu appliquer directement la méthode biochimique de BOURQUELOT.

La solution aqueuse saturée d'éther est abandonnée à elle-même jusqu'à ce que la cristallisation soit terminée.

Après 4 jours, on recueille les cristaux, on les sèche et pèse. On obtient 2 g.,82 pour 100 g. de fleurs.

Le liquide ne donne plus de cristaux par la suite.

Les cristaux recueillis, purifiés par cristallisations répétées dans l'eau chaude, additionnée de noir animal, présentent un

aspect, rappelant celui de l'asébotoside. Les réactions caractéristiques de cet oside (voir chapitre suivant), effectuées sur le produit isolé, permettent de l'identifier avec l'asébotoside, contenu dans les feuilles de la même plante.

Les fleurs fournissent donc 2 g.,82 d'asébotoside p. 100 g., ce qui représente un rendement considérable.

Les essais biochimiques sont effectués sur le filtrat, débarrassé de l'éther et ramené au volume primitif. Les résultats ci-dessous ont été obtenus.

Après l'action de la sucrase, on observe un changement de déviation de $2^{\circ}8'$ vers la gauche alors qu'il se forme 1 g.,168 de sucre réducteur pour 100 cm³. L'indice de réduction est de 547.

Sous l'action de l'émulsine, on observe un retour de $1^{\circ}36'$ vers la droite, ainsi qu'une formation de 1 g.,008 de sucre réducteur exprimé en glucose. L'indice de réduction 630, est très éloigné de celui obtenu au cours des essais biochimiques sur les branches et les bourgeons. Il diffère aussi fortement de celui obtenu par BOURQUELOT et FICHTENHOLZ (360) au cours de leurs essais sur les feuilles.

BOURQUELOT et FICHTENHOLZ n'ayant pas observé de cristallisation au cours de leurs essais, alors que l'asébotoside a cristallisé en abondance dans l'essai des fleurs, on peut admettre que à côté de l'asébotoside, les fleurs renferment un autre hétéroside à indice de réduction élevé, se rapprochant par exemple, de celui de l'arbutoside qui est de 700.

E. — Etude des feuilles.

100 g. de feuilles fraîches sont traités comme dans l'essai précédent. La solution aqueuse encore tiède est agitée à l'éther afin de séparer la chlorophylle. Après refroidissement de la liqueur décantée une cristallisation commence.

Nous avons pu isoler de la solution abandonnée au repos pendant 48 heures un produit, qui essoré au filtre BUCHNER et séché à l'air, pèse 2 g.,3. Après purification, il se montre identique à l'hétéroside, déjà isolé par Em. BOURQUELOT et FICHTENHOLZ dans les feuilles de *Kalmia latifolia* L.. Les feuilles fournissent donc moins d'asébotoside que les fleurs.

Sur le filtrat, ramené à 100 cm³ après évaporation de l'éther, nous avons effectué des essais biochimiques.

Les résultats sont exprimés dans le *tableau I* (voir page 12).

TABLEAU I.

	Rameaux	Ecorces	Racines	Bourgeons	Fleurs	Feuilles
<i>Déviation (l = 2) :</i>						
Initiale.....	- 101'	+ 29'	+ 48'	+ 46'	- 44'	+ 28'
Après l'action de la sucrase.....	00	00	+ 8'	- 1044'	- 2052'	- 208'
— — de l'émulsine.....	+ 57'	+ 20'	+ 39'	- 1010'	- 1016'	- 202'
<i>Sucre réducteur (p. 100 cm³) :</i>						
Initial.....	0.308	0.857	0.234	0.444	0.990	0.728
Après l'action de la sucrase.....	1.289	0.842	0.641	1.735	2.158	2.218
— — de l'émulsine.....	1.459	0.897	0.803	1.745	3.166	2.282
<i>Par la sucrase :</i>						
Recul de déviation.....	101'	29'	40'	20	208'	2036'
Sucre réducteur formé.....	0.981	0.485	0.407	1.294	1.468	1.490
Indice de réduction.....	974	4,004	614	643	547	573
<i>Par l'émulsine :</i>						
Retour de déviation.....	57'	20'	31'	4'	4036'	6'
Sucre réducteur formé.....	0.470	0.055	0.461	0.041	1.008	0.064
Indice de réduction.....	180	166	319	169	630	640

La sucrase provoque un changement de rotation de $2^{\circ}36'$ vers la gauche et la formation de 1 g.,490 de sucre réducteur p. 100 cm³ exprimé en glucose. L'indice de réduction, 573, est assez voisin de celui de saccharose, 604.

Après l'action de l'émulsine, on observe un changement de rotation vers la droite de $6'$ et la formation de 0 g.,064 de sucre réducteur, exprimé en glucose.

BOURQUELOT et FICHTENHOLZ ont obtenu, dans leurs essais, des changements de rotation vers la droite de $41'$ et de $55'$ et la formation de 0 g.,264 et de 0 g.,330 de sucre réducteur. Cela tient à ce que l'asébotoside est resté en solution et a été hydrolysé par l'émulsine.

Dans l'essai ci-dessus, au contraire, l'asébotoside ayant été retiré, l'émulsine n'a pu agir que sur la faible quantité restant en solution. Ce qui explique le faible retour vers la droite de $6'$.

On peut penser que les feuilles ne renferment que de l'asébotoside et que l'oside à indice de réduction élevé, mis en évidence dans l'essai des fleurs, n'existe pas dans les feuilles.

CHAPITRE III.

A. — L'asébotoside.

Préparation. — Pour extraire l'asébotoside des feuilles de *Kalmia latifolia* L., nous avons utilisé le procédé de BOURQUELOT et FICHTENHOLZ [17].

1.400 g. de feuilles fraîches sont traités par 6 litres d'alcool à 90° bouillant. Après ébullition de 20 minutes, on laisse refroidir et on décante l'alcool. Les feuilles sont passées au hachoir et traitées de nouveau par 3 litres d'alcool à 90°. On exprime à la presse et on filtre les solutions alcooliques réunies. On distille à l'alambic pour recueillir l'alcool. La solution aqueuse restante est filtrée et concentrée, sous pression réduite à 350 cm³ ; Le liquide encore tiède est agité à l'éther et abandonné à lui-même. La cristallisation est terminée en 48 heures. Les cristaux sont essorés, lavés et séchés. Ils pèsent 31 g.,5, mais sont assez fortement colorés en brun.

Les eaux-mères sont diluées à 1200 cm³ et partiellement déféquées par addition de 150 cm³ d'extrait de SATURNE. Le précipité est essoré et lavé. Le liquide incolore est débarrassé du plomb par l'hydrogène sulfuré, filtré et concentré en sirop, sous pression réduite, sans dépasser + 50°, pour éviter l'hydrolyse de l'oside par l'acide acétique provenant de l'extrait de SATURNE.

Le liquide sirupeux laisse cristalliser une nouvelle quantité (6 g.) d'asébotoside qu'on réunit à la première. On a donc obtenu 37 g.,5 d'asébotoside impur pour 1400 g. de feuilles fraîches, soit 26 g.,5 pour un kg.

Purification. — On dissout l'asébotoside brut dans 1500 cm³ d'eau distillée bouillante. On décolore au noir animal et on filtre. L'asébotoside cristallise par refroidissement. Après 4 nouvelles cristallisations on obtient le produit pur ; 37,5 d'asébotoside brut ont fourni 21 g. de produit pur.

Propriétés physiques. — L'asébotoside cristallisé dans l'eau et séché à l'air se présente en belles aiguilles fines, à reflet soyeux. Il est incolore, mais peut prendre, à la longue, une légère teinte jaune. Les aiguilles sont d'autant plus belles et plus régulières qu'elles se sont formées dans une solution moins concentrée. En solution saturée à chaud, on obtient des boules cristallines.

Au microscope, l'asébotoside se présente en grands prismes allongés, transparents.

Il possède une saveur amère, faible d'abord, mais qui s'accroît ensuite. Il n'a pas d'odeur.

Sa solution aqueuse est neutre aux réactifs colorés.

Désséché, à poids constant, à $+ 60^\circ$, dans le vide, dans l'appareil de BOUILLOT [9], l'asébotoside perd 7,11 p. 100. A $+ 105^\circ$, l'asébotoside s'altère : il jaunit et forme une masse compacte.

Désséché, il ne reprend pas d'eau par exposition à l'air.

L'asébotoside hydraté commence à se volatiliser à $+ 112^\circ$ - 113° sur le bloc de MAQUENNE ; il se volatilise complètement vers $+ 121^\circ$; il fond nettement à $+ 136^\circ$ - 137° . Anhydre, il fond à $+ 137^\circ$.

Il est lévogyre, comme l'ont reconnu BOURQUELOT et FICHTENHOLZ. En solution, dans l'alcool à 50° , son pouvoir rotatoire est de :

$$[\alpha]_D = - 54^\circ,09$$

$$(p = 0,2372 ; v = 20 ; l = 2 ; d = - 1^\circ 17')$$

Ce qui donne $[\alpha]_D = - 58^\circ,26$ pour le produit anhydre.

Solubilités. — BOURQUELOT et FICHTENHOLZ ont indiqué la solubilité de l'asébotoside dans l'eau et dans l'alcool de différents titres. Nous avons fait les déterminations suivantes, à $+ 19^\circ$ - 20° par agitation du corps finement pulvérisé avec les divers solvants.

100 g. d'ester acétique anhydre dissolvent	1 g.,1	d'asébotoside anhydre.
— d'ester acétique hydraté	— 13 g.,45	—
— d'acétone anhydre	— 24 g.,04	—
— d'alcool méthylique	— 24 g.,90	—
— d'éther	— 0 g.,57	—

On peut exprimer ces résultats de la façon suivante :

- 1 g. d'asébotoside anhydre se dissout, à $+ 19^\circ$ - 20° , dans :
- 4 g. d'alcool méthylique,
- 4 g.,3 d'acétone anhydre,
- 7 g.,4 d'ester acétique hydraté,
- 88 g.,3 d'ester acétique anhydre,
- 636 g. d'éther.

La solubilité de l'asébotoside dans le chloroforme, l'éther de pétrole et le benzène est extrêmement faible.

Propriétés chimiques. — Les acides sulfurique, chlorydrique, acétique dissolvent à froid l'asébotoside en se colorant légèrement en jaune, sans dégagement d'odeur ou de vapeurs. L'acide nitrique le décompose en donnant un liquide fortement coloré en rouge. La soude, l'ammoniaque, les solutions de carbonate et de bicarbonate de sodium, le phosphate disodique le dissolvent facilement. Il précipite par addition d'acide aux solutions obtenues.

Réactions de coloration. — 1° Le perchlorure de fer dilué donne une belle coloration rouge, encore perceptible avec une solution contenant 1 g. d'asébotoside dans 15.000 g. d'eau [17]. En solution alcoolique, la coloration rouge est moins intense.

2° Exposé sous une cloche aux vapeurs d'ammoniaque, après avoir été humecté d'eau, l'asébotoside se colore d'abord en jaune, puis en orange, en rouge et, finalement en violet pourpre. La coloration violet pourpre est atteinte en 24 heures. Nous reviendrons plus loin sur le produit formé dans cette réaction.

Pouvoir réducteur. — Le pouvoir réducteur de l'asébotoside vis-à-vis de la liqueur cupro-alkaline est très faible. Il est déterminé par la méthode de M. G. BERTRAND [5].

0 g.,2789 d'asébotoside anhydre ont précipité une quantité d'oxyde cuivreux correspondant à 8 mg. de cuivre, ce qui représente 4 mg.,2 de glucose. Un gramme d'asébotoside anhydre équivaut à 0 g.,015 de glucose.

Hydrolyse sulfurique. — L'hydrolyse est effectuée en tube scellé, au bain-marie bouillant, avec l'acide sulfurique à 5 p. 100. A cause de la faible solubilité de l'asébotoside dans l'eau, on le pèse directement dans le tube ; on ajoute 20 cm³ d'acide, et on scelle le tube. A chaud, la solution se fait en une vingtaine de minutes. Le produit non glucidique ne tarde pas à précipiter dans le tube.

L'hydrolyse terminée, on recueille ce produit sur un creuset de Gooch taré, on le lave à l'eau distillée ; on le sèche à 105°, à poids constant, et on le pèse.

L'asébogénol n'étant pas complètement insoluble dans l'acide sulfurique dilué au moment de sa formation, le liquide aqueux

est agité à l'éther. Par évaporation du solvant, on obtient une faible quantité d'asébogénol qu'on dessèche et qu'on pèse. En additionnant les deux poids obtenus, on a la quantité totale de l'asébogénol formé par hydrolyse. Le dosage du glucose est effectué dans la solution par la méthode de M. G. BERTRAND [5].

On a obtenu les résultats suivants :

Durée de l'hydrolyse	Asébotoside anhydre (en g.)	Glucose (en mg.)	Glucose (p. 100)	Asébogénol (en g.)	Asébogénol (p. 100)
1 heure.....	0,1840	20,05	43,58	0,1152	62,60
1 heure.....	0,2417	25,68	42,51	0,1479	63,30
2 heures....	0,1840	19,73	42,84	0,1148	62,34
3 heures....	0,1820	49,73	43,29	0,1150	63,17

Soit, en moyenne, 43,0 p. 100 de glucose et 62,8 p. 100 d'asébogénol.

Hydrolyse à l'émulsine à $+ 30^{\circ}$. — L'hydrolyse par l'émulsine est réalisée suivant le procédé indiqué par M. BRIDEL [19], en mettant 2 g. d'émulsine au lieu de 1 g.

L'hydrolyse est effectuée comme M. BRIDEL l'a indiqué et on obtient, finalement, 39,54 de glucose p. 100. L'hydrolyse est presque totale, puisque, par hydrolyse sulfurique, on obtient 43,0 p. 100 de glucose.

Le précipité rose qui se forme dans le liquide contient le produit non glucidique mélangé à la partie insoluble de l'émulsine. On le recueille et on le fait bouillir avec 350 cm³ d'alcool à 95°. L'asébogénol se dissout et l'émulsine reste insoluble. On la sépare par filtration. Le liquide filtré est évaporé à sec et l'asébogénol est repris par 300 cm³ d'alcool à 10°. On décolore au noir animal et on filtre. L'asébogénol cristallise par refroidissement. Après plusieurs cristallisations, on obtient un produit absolument incolore alors que l'asébogénol obtenu par hydrolyse acide est toujours coloré en rose. Le point de fusion, $+ 272^{\circ}$, est le même pour les deux produits malgré cette différence de teinte.

Hydrolyse par l'émulsine à $+ 50^{\circ}$. — Nous avons essayé d'effectuer l'hydrolyse de l'asébotoside en solution et non plus en suspension comme dans l'expérience précédente. Nous avons mis, pour cela, à profit la solubilité assez grande de l'asébotoside dans l'eau à $+ 50^{\circ}$. On obtient, en effet, à cette température,

une solution aqueuse contenant environ 0 g.,8 d'asébotoside pour 100 cm³.

Dans un flacon, on met 1 g.,0067 d'asébotoside cristallisé (ce qui correspond à 0 g.,9352 d'asébotoside anhydre) et on ajoute 100 cm³ d'eau toluénée. On laisse à l'étuve, à + 50°, en agitant fréquemment de façon à obtenir une solution saturée. On filtre à l'étuve à + 50° sur un filtre taré pour séparer l'asébotoside non dissous. On récupère ainsi 0 g.,1293 de produit anhydre. La solution contient donc, pour 100 cm³, 0 g.,8059 d'asébotoside anhydre. On ajoute alors 1 g. d'émulsine et on laisse à l'étuve à + 50°, en ayant soin d'agiter plusieurs fois par jour.

La marche de l'hydrolyse est contrôlée en déféquant les prises d'essai à l'extrait de SATURNE et au sulfate de sodium. Les résultats ci-dessous sont ramenés au volume du liquide primitif.

Durée de l'expérience	Rotation (l = 2)	Glucose formé pour 100 cm ³ (en g.)	Glucose formé p. 100 de l'hétéroside
10 jours	+ 4'	0,152	18,86
17 —	+ 4'	0,152	18,86
	addition d'un gramme d'émulsine		
30 —	+ 8'	0,249	30,95
	addition d'un gramme d'émulsine		
40 —	+ 8'	0,257	31,84
	addition de 0 g.,5 d'émulsine		
45 —	+ 8'	0,258	32,01
50 —	+ 8'	0,258	32,01

On voit que pour réaliser l'hydrolyse de l'asébotoside dissout, à + 50°, il est nécessaire d'ajouter, à plusieurs reprises, une nouvelle quantité d'émulsine. A + 50° en effet, l'émulsine est rapidement détruite. En 50 jours, on a obtenu seulement 32,01 p. 100 de glucose. L'hydrolyse à + 30° est donc plus rapide et plus poussée. Il n'est pas avantageux d'opérer l'hydrolyse fermentaire de l'asébotoside à + 50°.

Poids moléculaire. — La solubilité de l'asébotoside dans l'eau étant très faible, nous n'avons pu effectuer la cryoscopie dans ce solvant. Des essais avec l'acide acétique nous ont donné de mauvais résultats.

Analyse élémentaire et composition centésimale. — L'asébotoside chauffé sur une lame de platine, fond, charbonne et brûle sans résidu. Il ne contient pas d'azote.

Les combustions sont effectuées sur l'asébotoside cristallisé renfermant 7,11 p. 100 d'eau, en tube ouvert, dans un double courant d'oxygène. Elles donnent les résultats suivants : (déduction faite du poids d'eau existant dans le produit cristallisé).

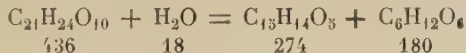
Asébotoside anhydre (en g.)	CO ₂ (en g.)	H ₂ O (en g.)	C p. 100	H p. 100
1. 0,1851	0,3882	0,1087	57,20	5,67
2. 0,1493	0,3129	0,0859	57,15	5,61

En se basant sur ces résultats, on peut proposer pour l'asébotoside anhydre la formule C₂₁H₂₄O₁₀.

	Trouvé en moyenne	Calculé pour C ₂₁ H ₂₄ O ₁₀
C. p. 100.....	57,18	57,79
H. p. 100.....	5,64	5,50

Remarquons que cette formule ne correspond pas à celle qui a été proposée par EYKMAN, C₂₄H₂₈O₁₂, et qu'elle est exactement celle du phlorizoside.

L'équation d'hydrolyse de l'asébotoside serait ainsi :



D'après cette équation, l'asébotoside fournit 41,28 p. 100 de glucose et 62,84 p. 100 d'asébogénol, alors que les proportions trouvées par hydrolyse sulfurique sont respectivement de 43,0 p. 100 et 62,8 p. 100.

B. — L'Asébogénol.

Pour étudier la constitution de l'asébogénol, il est plus facile de le préparer par hydrolyse sulfurique que par hydrolyse diastase. Les deux procédés donnent un produit identique.

Préparation. — 10 g. d'asébotoside cristallisé sont traités par 100 cm³ d'acide sulfurique à 5 p. 100, à l'ébullition, à reflux, sur bain de chlorure de calcium. Après une heure d'ébullition on laisse refroidir et on recueille l'asébogénol cristallisé. On lave à l'eau pour éliminer l'acide sulfurique et on le sèche à l'air. Le rendement est presque théorique : 6 g. au lieu de 6 g.,20.

Le produit, fortement coloré en rose, est dissous à l'ébullition dans 1.000 cm³ d'alcool à 10°. La solution, décolorée au noir, est filtrée bouillante et l'asébogénol cristallise par refroidissement.

Par concentration des eaux-mères, on obtient une nouvelle quantité d'asébogénol.

Propriétés physiques. — L'asébogénol pur se présente en petites aiguilles brillantes, très légères, faiblement teintées de rose. Il est inodore et possède une saveur légèrement sucrée.

Au bloc MAQUENNE, il fond nettement à + 274°.

Il cristallise anhydre et ne perd pas sensiblement de poids quand on le chauffe à + 70°, dans le vide, dans l'appareil de BOUILLOT [9].

Il ne réduit la liqueur cupro-alcaline ni à froid ni à chaud. Il est sans action sur la lumière polarisée.

Il est pratiquement insoluble dans l'eau froide et très peu soluble dans l'eau bouillante. La solubilité dans l'alcool croît avec le titre de l'alcool.

Il est très peu soluble également dans l'éther anhydre et dans le chloroforme.

Les acides minéraux concentrés le dissolvent sans altération sauf l'acide nitrique qui le décompose.

L'acide acétique le dissout en toutes proportions à chaud et le laisse déposer en petites aiguilles brillantes, cristallisées, par refroidissement.

La soude ou la potasse diluée dissolvent l'asébogénol et la solution se colore en orangé à l'air.

L'asébogénol est facilement soluble dans les solutions de carbonate et de bicarbonate de sodium. Par addition d'un acide, l'asébogénol précipite inaltéré.

Propriétés chimiques. — L'asébogénol donne les mêmes réactions de coloration que l'asébotoside par l'ammoniac et le perchlorure de fer. 0 g.,01 d'asébogénol dissout dans 2 cm³ d'eau et additionné de 2 cm³ d'un mélange d'une solution d'acétate d'aniline et de solution à 1 p. 100 de nitrite de sodium donne un précipité rouge cinabre analogue au benzène-azo-phloroglucinol.

Poids moléculaire. — L'asébogénol n'étant pas suffisamment soluble dans les solvants usuels eau, benzène, bromure d'éthylène, acide acétique la cryoscopie n'a pu en être effectuée.

Le poids moléculaire est déterminé par voie chimique. On dissout 0 g.,400 d'asébogénol dans l'alcool absolu neutre et on titre par la potasse alcoolique en présence de phénolphthaléine comme indicateur. On utilise une quantité de potasse égale à 0 g.,02876.

$$\text{PM} = \frac{0,1400 \times 56}{0,02876} = 272$$

Composition centésimale. — L'analyse est faite sur le produit anhydre dans les mêmes conditions que pour l'asébotoside.

	Asébogénol anhydre (en g.)	CO ₂ (en g.)	H ₂ O (en g.)	C p. 100	H p. 100
1.	0,1844	0,4434	0,0897	65,57	5,40
2.	0,1838	0,4400	0,0858	65,68	5,19

La formule proposée C₁₅H₁₄O₅ est en accord avec la formule de l'asébotoside donnée plus haut C₂₁H₂₄O₁₀ et avec les résultats ci-dessus :

	Trouvé en moyenne	Calculé pour C ₁₅ H ₁₄ O ₅
Poids moléculaire.....	272	274
C p. 100	65,63	65,69
H p. 100	5,30	5,10

L'asébotoside et l'asébogénol possèdent respectivement la même formule que le phlorizoside et le phlorétol et l'équation d'hydrolyse donnée p. 19 est aussi bien celle du phlorizoside que celle de l'asébotoside.

En conséquence, pour étudier la constitution de l'asébogénol, il nous a paru logique d'employer la méthode qui avait conduit à la constitution du phlorétol, c'est-à-dire, l'hydrolyse par la baryte à haute température.

Hydrolyse par la baryte. — L'opération est faite suivant le procédé indiqué par H.HLASIVETZ [37] modifié par M. J. BOUGAULT [8].

On chauffe dans un tube scellé, pendant 4 heures, à l'autoclave à + 115°-120° un mélange de :

Asébogénol	4 g.,50
Hydrate de baryte pulv.	11,25
Eau.....	18 cm ³

A l'ouverture du tube, il se dégage une forte odeur de goudron. Le contenu du tube est dissous dans l'acide chlorhydrique au dixième, ajouté jusqu'à réaction nettement acide,

La solution, fortement colorée en rouge orangé est épuisée à plusieurs reprises par l'éther ordinaire qui dissout les principes formés, à l'exception des produits résineux d'altération qui restent en solution aqueuse. Les liqueurs éthérées sont réunies et évaporées à sec au bain-marie. Le résidu est constitué par une huile tenant des cristaux en suspension. Le mélange est dissous dans 30 cm³ d'eau bouillante. La solution est additionnée d'un excès de carbonate de calcium qui produit un vif dégagement de gaz carbonique. Les produits acides sont ainsi passés à l'état de sels de calcium. Après filtration, on épuise à l'éther qui dissout la partie non acide. Par évaporation de l'éther, on obtient des cristaux encore impurs de nature phénolique.

D'autre part, la solution aqueuse séparée ainsi de la partie phénolique et contenant la partie acide, est acidifiée par l'acide chlorhydrique qui met l'acide organique en liberté. Par agitation à l'éther, cet acide se dissout et on l'obtient après évaporation de sa solution éthérée.

On obtient ainsi 0 g.,80 de produit phénolique et 3 g.,50 d'acide. Par une série de purifications successives à l'eau bouillante en présence de noir décolorant, on isole finalement les deux composés à l'état pur. Ils ont été identifiés de la façon suivante :

A. PHÉNOL. — Le phénol isolé se présente sous forme d'une poudre blanche, cristallisée en petites tables rhombiques, à saveur sucrée. Il est très soluble dans l'eau froide, l'alcool et l'éther. Au bloc MAQUENNE, il commence à se volatiliser sans fondre vers + 210° et il fond nettement à + 221°. Il possède donc un point de fusion très voisin de celui du phloroglucinol (phloroglucine), + 220°.

Nous avons comparé avec le phénol obtenu dans l'hydrolyse de l'asébotol, un échantillon de phloroglucinol pur préparé par purification du phloroglucinol commercial. Le phloroglucinol pur fond au bloc MAQUENNE à + 221°,5 et le mélange des deux produits à + 221°. Nous avons effectué, en outre, sur les deux composés, une série de réactions caractéristiques du phloroglucinol.

1° En solution dans l'eau, les deux composés donnent par le perchlorure de fer au dixième, une coloration violette.

2° *Réaction de LIEBERMANN* [46]. — Le réactif est formé par 100 g. d'acide sulfurique pur tenant en dissolution 1 g. de nitrite de sodium. Dans 5 cm³, on dissout 0 g.,01 de produit et on porte 10 secondes au bain-marie bouillant. On obtient une coloration rose intense,

3° On dissout 0 g.,01 dans 2 cm³ de chloroforme et 1 cm³ d'alcool et on ajoute une pastille de potasse qui se colore en rose.

4° On dissout 0 g.,01 dans 2 cm³ d'eau et on ajoute 2 cm³ d'un mélange à parties égales de solution d'acétate d'aniline (1) et de solution à 1 p. 100 de nitrite de sodium : on obtient un précipité rouge cinabre de benzène azo-phloroglucinol.

Ces réactions sont identiques avec les deux produits :

Le phénol qui se forme par hydrolyse barytique de l'asébogénol est donc le phloroglucinol.

B. ACIDE. — L'acide pur se présente en beaux prismes blancs, à odeur particulière. Il est assez soluble dans l'eau froide, très soluble dans l'eau bouillante, l'alcool et l'éther. La solution aqueuse est nettement acide au tournesol et possède une saveur légèrement astringente.

Au bloc MAQUENNE, il fond nettement à + 130°,5.

Il cristallise à l'état anhydre.

Son poids moléculaire est déterminé par alcalimétrie. On dissout 66 mg.,1 de l'acide dans l'alcool absolu neutre et on le titre par une solution alcoolique de potasse en présence de phénolphthaléine. On emploie 21 mg.,87 de potasse.

$$PM = \frac{66,1 \times 56}{21,87} = 169$$

L'acide phlorétique ou acide *p.* hydrocoumarique, que l'on obtient à côté du phloroglucinol par hydrolyse barytique du phlorétol, fond à + 129° et possède un poids moléculaire de 166.

L'acide obtenu avec l'asébogénol donne les deux réactions suivantes considérées par STÖHR [70] comme caractéristiques des acides phénoliques.

1° Le produit en poudre se dissout lentement dans l'acide sulfurique concentré avec une coloration rouge fugace. Une trace de nitrite de sodium donne une coloration brune intense, qui passe, après dilution dans l'eau, en jaune d'or. Si on chauffe, on obtient une coloration jaune verdâtre.

2° *Réaction de MILLON.* — On ajoute goutte à goutte une solution neutre de nitrate de mercure à une solution aqueuse de l'acide et on fait bouillir : il se dépose un précipité blanc. Si

(1) Aniline ; 2 cm³ ; acide acétique : 2 cm³ ; eau : 4 cm³,

la solution de nitrate de mercure n'est pas exactement neutre, le précipité est rose.

En ajoutant quelques gouttes de solution très diluée de nitrite de sodium, additionnée d'acide azotique et en chauffant, on provoque la coloration rouge du précipité et de la liqueur.

Avant d'affirmer l'identité de l'acide *p*-hydrocoumarique avec le produit obtenu, nous avons voulu le comparer avec un acide préparé, par nous-même, par hydrogénation de l'acide *p*-coumarique.

Cet acide a été extrait de l'aloès du Cap, suivant la méthode de M. BOUGAULT [8], légèrement modifiée.

On mélange dans une capsule en émail :

Aloès pulvérisé.....	500 g.
Lessive de soude.....	100 g.
Eau.....	1.000 cm ³

On fait bouillir une demi-heure en agitant et en remplaçant l'eau qui s'évapore. On laisse refroidir et on acidifie nettement avec de l'acide sulfurique au tiers. On laisse déposer ; on décante la solution limpide et on l'épuise à l'éther. Par évaporation de l'éther, on obtient de l'acide coumarique impur qu'on purifie par cristallisations dans l'eau. Finalement, on obtient un produit pur fondant, au bloc MAQUENNE, à + 226°. L'hydrogénation en a été réalisée suivant la méthode de HLASIWETZ [37]. On met dans un ballon :

Acide coumarique.....	1 g.
Amalgame de sodium.....	10 g.
Eau distillée.....	25 g.

Le ballon est chauffé une heure au bain-marie puis porté à l'ébullition, à reflux, pendant une heure. On laisse refroidir ; on acidifie par l'acide sulfurique dilué et on épuise à l'éther. Par évaporation, on obtient 0 g.,9 d'acide impur qu'on purifie par cristallisation dans l'eau.

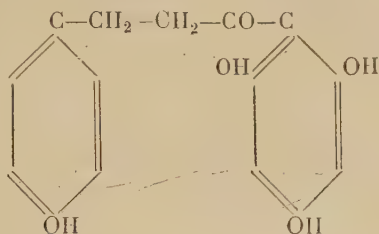
On compare le point de fusion de cet acide *p*-hydrocoumarique pur avec celui de l'acide obtenu avec l'asébogénol :

	P. F.
Acide <i>p</i> -hydrocoumarique.....	+ 120°,5
Acide examiné.....	+ 130°
Mélange des deux.....	+ 129°,5

C'est donc bien de l'acide *p*-hydrocoumarique que l'on obtient avec le phloroglucinol, dans l'hydrolyse barytique de l'asébogénol.

Ainsi, au cours de l'hydrolyse barytique de l'asébogénol et du phlorétol, on obtient les mêmes principes, d'une part, l'acide *p*-hydrocoumarique et, d'autre part, le phloroglucinol. On est donc amené à penser à l'identité de l'asébogénol et du phlorétol.

Ces principes sont unis au glucose aussi bien dans l'asébotoside que dans le phlorizoside ; ils possèdent la même composition centésimale ; on doit donc envisager, soit une identité complète des deux osides, soit une simple isomérisie. Cette isomérisie serait due, par exemple, à ce que le glucose ne serait pas fixé sur le même oxydryle du phlorétol qui en possède 4 :



Quelques propriétés physiques et chimiques qu'on trouve dans la littérature sur le phlorizoside ne concordent pas avec les propriétés que nous avons établies pour l'asébotoside. Ces faits sont en faveur d'une isomérisie. On peut rappeler également qu'EYK-MANN avait conclu à la non identité des deux hétérosides.

Toutefois, pour affirmer que l'on a bien affaire à deux isomères et non pas à un seul et même principe, il nous a paru nécessaire de faire une étude comparative complète du phlorizoside et de l'asébotoside.

D'autre part, en examinant les travaux effectués sur le phlorizoside, on peut remarquer les contradictions qui existent entre divers auteurs sur ses constantes physiques.

C'est particulièrement le point de fusion qui diffère beaucoup suivant les auteurs.

Ainsi, de KÖNNINCK [41, 42] admet que le phlorizoside fond à $+ 108^\circ$; STASS [69] lui attribue deux points de fusion : $+ 107^\circ$ et $+ 158^\circ-160^\circ$; suivant H. SCHIFF [62], les deux points de fusion sont de $+ 110^\circ$ et $+ 170-171^\circ$. Pour le phlorétol, STASS indique comme point de fusion $+ 180^\circ$ et H. SCHIFF $+ 253^\circ-255^\circ$ [62].

Le pouvoir rotatoire du phlorizoside est seulement indiqué par $[\alpha]_D = -39^\circ$ (BOUCHARDAT).

A cause de ces divergences, il était nécessaires de faire une nouvelle étude des propriétés physiques et chimiques du phlorizoside et les comparer avec les propriétés de l'asébotoside, ce qui fera l'objet du chapitre suivant.

Cette étude nous a amenés à la conclusion que phlorizoside et asébotoside ne sont qu'un seul et même principe immédiat.

CHAPITRE IV.

Etude comparative du phlorizoside [20] et de l'asébotoside.

Le phlorizoside qui est utilisé au cours de ce travail, a été préparé en partant de l'écorce de pommier et de l'écorce de poirier par deux procédés différents.

1° *Extraction à l'éther.* — Ce procédé nous a été indiqué par M. C. CHARAUX qui l'utilise depuis de nombreuses années.

L'écorce de pommier, séchée avec soin, est pulvérisée et passée au tamis 15. Elle est épuisée par percolation continue à l'éther hydraté dans un appareil de SOHLET. L'éther dissout peu à peu le phlorizoside qui se dépose au fur et à mesure dans le ballon. Au bout de 4 à 5 heures, on laisse refroidir et on recueille le précipité qu'on sèche à l'air. On le dissout dans l'eau bouillante et on filtre : le phlorizoside pur se dépose par refroidissement. Le rendement est assez variable, mais il atteint facilement 5 p. 100 du poids de l'écorce sèche, en produit pur.

2° *Extraction à l'alcool.* — Ce procédé est celui qui a servi à extraire l'asébotoside des feuilles de *Kalmia latifolia* L.

L'écorce sèche de poirier fournit de la sorte 9 g., 18 p. 100 de phlorizoside impur, fortement coloré en brun qu'il a fallu purifier par de nombreuses cristallisations successives dans l'eau bouillante. Une dernière purification a été faite en dissolvant le phlorizoside dans l'alcool à 50° et en le faisant cristalliser par addition d'un demi-volume d'eau.

Ce procédé est plus long que le premier et le rendement en produit pur n'est pas meilleur.

Pour une préparation d'une quantité importante de phlorizoside il vaut mieux employer le procédé de M. C. CHARAUX qui donne très rapidement l'hétéroside pur avec un rendement avantageux.

Après avoir préparé ainsi 50 g. de phlorizoside pur, nous avons effectué une cristallisation identique du phlorizoside et de l'asébotoside : dissolution dans l'alcool à 50° et addition d'un demi-volume d'eau. Les deux osides ont été séchés à l'air dans les mêmes conditions et comparés.

Teneur en eau. — A + 105°, le phlorizoside a perdu 6,92 p. 100 et l'asébotoside 7,01, en s'altérant.

Dans l'appareil de BOUILLOT, dans le vide, à + 60°, pendant 6 heures, le phlorizoside a perdu 6,39 et l'asébotoside 6,46 p. 100.

Point de fusion. — Au bloc MAQUENNE, l'asébotoside fond à + 137°,5 ; le phlorizoside à + 137° et le mélange des deux à + 137°.

Pouvoir rotatoire. — Il a été déterminé sur les produits hydratés, en solution dans l'alcool à 50°.

Asébotoside	Phlorizoside
$\alpha_D = -53^{\circ},80$ ($p = 0,2601$; $v = 15$; $l = 2$; $\alpha = -1^{\circ}52'$)	$\alpha_D = -53,80$ ($p = 0,2556$; $v = 15$; ($l = 2$; $= -1^{\circ}50'$).

Ce qui fait pour les produits anhydres :

$\alpha_D = -57^{\circ},52.$	$\alpha_D = -57^{\circ},44.$
------------------------------	------------------------------

Réactions de coloration. — Phlorizoside et asébotoside donnent exactement les mêmes colorations par le perchlorure de fer.

Action de l'ammoniac. — C'est en se basant sur cette réaction qu'il a trouvée différente pour l'asébotoside et le phlorizoside qu'EYKMAN a conclu à la non identité de ces deux principes. Nous l'avons effectuée en suivant la méthode de STASS [67]. On met sous une cloche plusieurs capsules plates contenant le produit humide, en couche mince. Une grande capsule contient une solution d'un sel ammoniacal. On y projette, au moment voulu, un petit morceau de potassium qui dégage la quantité de gaz ammoniac nécessaire à la réaction.

La cloche est placée dans une cuvette remplie d'eau qui maintient l'humidité de l'atmosphère.

L'hétéroside absorbe d'abord de l'eau et devient sirupeux. En 5 ou 6 heures, la masse devient jaune, puis successivement orangée brune, rouge et finalement bleu pourpre intense. La réaction est généralement terminée en 24 heures.

Il peut arriver cependant que le corps bleu qui est le phlorizéate d'ammonium de STASS, soit souillé par une substance brun-rouge. Celle-ci se forme surtout sur les bords et doit être enlevée soigneusement, car elle provoque la décomposition du phlorizéate d'ammonium. STASS recommande d'opérer toujours avec un excès d'oside par rapport à l'ammoniac.

Cette réaction intermédiaire peut masquer totalement la formation du corps bleu si on est en présence d'un excès d'ammoniac. Il est très probable que l'échec d'EYKMAN est dû à ce fait.

Pour isoler le phlorizéate d'ammonium, on dessèche le produit sur l'acide sulfurique et on le lave à l'alcool bouillant qui dissout l'oside en excès et le corps rouge formé. On sèche le résidu dans le vide sulfurique.

C'est un corps bleu pourpre, amorphe, de saveur amère, soluble dans l'eau froide, insoluble dans l'acide acétique, l'éther et l'alcool.

Chauffé en solution aqueuse, il perd de l'ammoniac et donne un précipité rouge, la phlorizéine. La phlorizéine s'obtient également par addition d'acide à la solution aqueuse du phlorizéate d'ammonium. STASS a analysé ce produit et ses sels d'argent et de plomb. Il attribue à la phlorizéine la formule $C_{64}H_{90}N_6O_{42}$, en admettant pour le phlorizoside la formule $C_{32}H_{36}O_{15}$.

On purifie la phlorizéine en la dissolvant dans l'eau et en la précipitant par addition d'un acide.

Le phlorizoside et l'asébotoside ont donné, dans des conditions identiques, le même produit.

Hydrolyse sulfurique. — Dans les mêmes conditions, on a obtenu les résultats suivants :

	Glucose p. 100	Produit non glucidique p. 100
Phlorizoside.....	42,29	63,17
Asébotoside.....	42,46	62,90

Hydrolyse par l'émulsine. — Le phlorétol a été extrait après hydrolyse par l'émulsine du phlorizoside comme l'asébogénol en partant de l'asébotoside. Les deux produits purs fondent à $+ 274^{\circ}$ et le mélange des deux fond à la même température.

Le point de fusion des deux principes obtenus par hydrolyse acide est de $+ 274^{\circ}$.

Hydrolyse par la baryte. — On effectue, en même temps, l'hydrolyse de l'asébogénol et celle du phlorétol et on compare les

produits purs obtenus, phloroglucinol et acide *p*-hydrocoumarique.

Origine	Acide <i>p</i> . hydrocoumarique	Phloroglucinol
Asébogénol.....	+ 130°,0	+ 221°
Phlorétol.....	+ 130°,5	+ 220°
Mélange.....	+ 130°,5	+ 221°

Essai physiologique. — On sait que le phlorizoside a la propriété de provoquer une forte glycosurie. Nous avons voulu voir si l'asébotoside présente également cette propriété.

Nous remercions M. RATHERY, Professeur à la Faculté de Médecine de Paris, d'avoir bien voulu se charger de l'essai physiologique de l'asébotoside. Il a injecté 1 g.,5 d'asébotoside à un Chien de 9 kg.

	Glycémie	Glycosurie
Avant l'injection.....	1 g.,02	0
Après 1 h. 1/2.....	0 g.,92	33 g.,6
Après 3 h.....	0 g.,98	31 g.,1
Urine de la nuit.....		18 g.,3
Après 20 h.....	0 g.,90	6 g.,15

L'asébotoside présente donc les propriétés physiologiques du phlorizoside.

Les résultats obtenus au cours de l'étude comparative de l'asébotoside et du phlorizoside sont rassemblés dans le tableau suivant.

	Asébotoside	Phlorizoside	Mélange
Point de fusion.....	+ 137°,5	+ 137°	+ 137°
Pouvoir rotatoire.....	— 57°,52	— 57°,44	
Teneur en eau (p. 100).....	6,46	6,39	
Glucose p. 100.....	42,46	42,29	
Produit non glucidique p. 100..	62,90	63,17	
Coloration par :			
Perchlorure de fer.....	rouge	rouge	
Ammoniac.....	bleu pourpre	bleu pourpre	

	Asébogénol	Phlorétol	Mélange
Point de fusion.....			
Hydrolyse acide.....	+ 274°	+ 274°	+ 274°
Hydrolyse diastasique.....	+ 274°	+ 274°	+ 274°
Produits obtenus par hydrolyse barytique :	phloroglucinol acide <i>p</i> . hydrocoumarique.		

Etude des spectres d'absorption dans l'ultra-violet [56].

Madame RAMART-LUCAS, Professeur à la Faculté des Sciences de Paris, a bien voulu se charger de la détermination des courbes d'absorption dans l'ultra-violet. Nous sommes heureux de lui adresser ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

Ces déterminations sont faites dans les mêmes conditions pour les deux osides, sur une solution dans l'alcool à 95°, à la concentration de N/100 et N/200. Les résultats sont représentés par des courbes tracées en portant en abscisses la longueur d'ondes et en ordonnées de logarithme du coefficient d'absorption. Ces courbes sont reproduites ci-dessous. Comme on le voit, elles sont entièrement superposables.

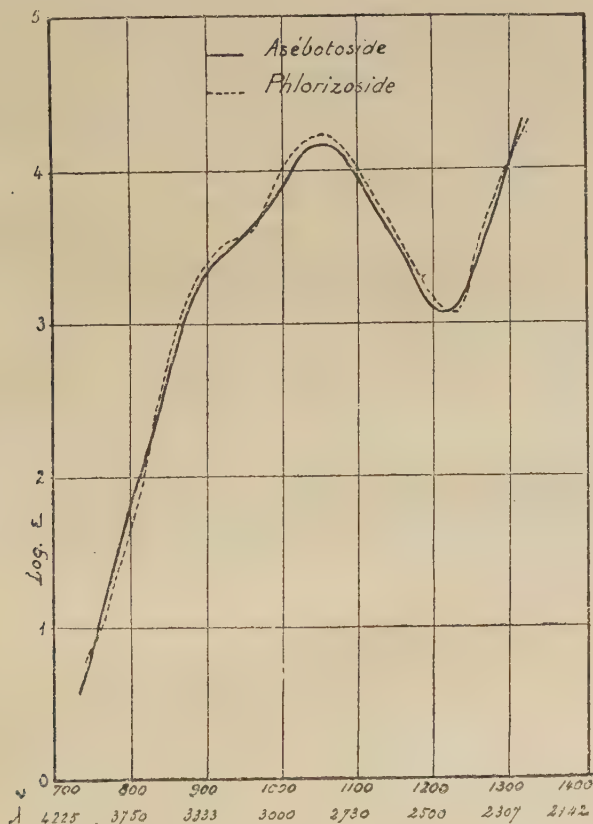
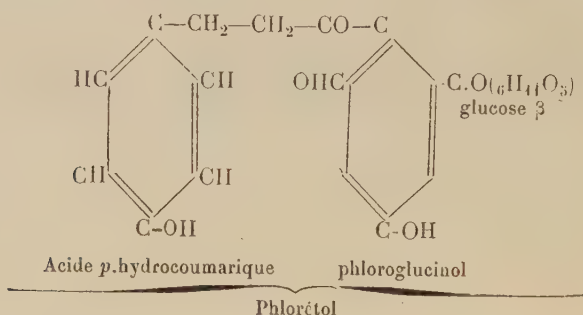


FIGURE I. — Asébotoside et phlorizoside.

Ces résultats prouvent d'une façon indiscutable qu'on a affaire à un seul et même principe immédiat, et qu'il y a identité abso-

lue entre l'hétéroside extrait des feuilles de *Kalmia latifolia* L. (asébotoside) et l'hétéroside extrait des écorces de pommier et de poirier (phlorizoside).

La constitution chimique de ce principe immédiat est représentée par la formule suivante :



Cette constitution a été déterminée à la suite des nombreux travaux effectués sur le phlorizoside et sur son produit d'hydrolyse, le phlorétol [24, 26, 29-37, 39, 41, 42, 47, 49-55, 54-59, 61-67, 69-71]. On doit donc conserver ces noms à l'hétéroside et au produit non glucidique qui en dérive.

Il s'ensuit que le nom d'asébotoside (asébotine d'EYKMANN) et celui d'asébogénol (asébogénine d'EYKMANN) qui désigne les principes identiques au phlorizoside (phlorizine) et au phlorétol (phlorétine), doivent disparaître de la nomenclature chimique.

On doit dire maintenant que le phlorizoside existe non seulement dans les écorces d'un certain nombre d'arbres de la famille des Rosacées (poirier, pommier, etc), mais encore dans deux plantes de la famille des Ericacées, *Andromeda japonica* Thumb et *Kalmia latifolia* L.

DEUXIÈME PARTIE.

Etude du *Philyrea latifolia* L.

CHAPITRE PREMIER.

Travaux antérieurs sur le *Philyrea latifolia* L. et le philyroside (philyrine).

Le *Philyrea latifolia* L. est un arbrisseau de la famille des Oléacées, répandu dans l'Europe Méridionale, l'Asie Occidentale et l'Afrique Septentrionale.

La hauteur de la plante varie de deux à huit mètres, les rameaux sont robustes et raides ; les feuilles inférieures sont larges, ovales ou elliptiques, oblongues, courtement pétiolées, dentées-épineuses, les feuilles supérieures sont plus étroites et finement dentées, à nervure dorsale saillante. Les fleurs sont disposées en grappes courtes et peu fournies ; la drupe est de la grosseur d'un pois ; elle est globuleuse, obtuse ombiliquée, non apiculée, à noyau globuleux.

Les propriétés thérapeutiques du *Philyrea* sont connues depuis très longtemps.

CARBONCELLI [22, 23] étudiant le *Philyrea* en 1836, isola une substance cristallisée qu'il désigna sous le nom de sulfate de philyrine par analogie avec le sulfate de quinine.

Il prépara le philyroside par le procédé suivant :

On épuise par l'eau bouillante l'écorce desséchée et finement pulvérisée de *Philyrea latifolia* et *media*. La décoction concentrée et clarifiée par de l'albumine est alcalinisée par l'addition d'un léger excès de lait de chaux et abandonnée à elle-même. Au bout d'un mois environ, on essore le dépôt calcaire, on le dessèche et on le pulvérise finement. La poudre est épuisée par de l'alcool à 55° bouillant ; le filtrat traité par du noir animal et débarras-

sé de l'alcool par distillation, abandonne des cristaux par refroidissement.

D'après CARBONCELLI, le philyroside possède une saveur amère très faible d'abord, mais qui s'accroît ensuite et devient astringente. Il est très peu soluble dans l'eau froide, dans l'éther et dans les huiles essentielles et grasses, soluble dans l'eau bouillante et l'alcool.

Il ne donne pas de sels avec les acides. Il ne se combine pas aux alcalis, propriété qui est mise à profit pour opérer son extraction.

CARBONCELLI signala également dans le *Philyrea*, un principe acide semblable au tannin ; ce principe se trouve surtout dans les feuilles qui sont d'ailleurs très pauvres en hétéroside.

L'étude du philyroside fut poursuivie par C. BERTAGNINI [2, 3] qui le prépara en traitant la décoction de l'écorce de *Philyrea* par la chaux ou l'oxyde de plomb ; dans la liqueur filtrée et concentrée l'hétéroside cristallise après un repos d'un mois environ.

En hydrolysant le philyroside par l'acide chlorhydrique dilué, BERTAGNINI a démontré qu'il s'agissait d'un hétéroside. En effet, il a pu isoler un sucre de la solution acide neutralisée, évaporée à sec et reprise par l'alcool bouillant. D'après sa forme cristalline, il a caractérisé ce dernier comme étant du glucose. D'autre part, il a obtenu une substance non glucidique d'aspect résineux.

D'après cet auteur le philyroside n'est pas hydrolysable par la synaptase (émulsine), mais il est dédoublé quand on le met dans les conditions de la fermentation lactique. On obtient ainsi le produit non glucidique, le philigénol (philygénine) très pur, cristallisé, tandis que le produit obtenu par hydrolyse acide est impur et cristallise très difficilement.

Le philigénol se présente sous forme d'une masse cristalline nacréée, brillante, insoluble dans l'eau froide, peu soluble dans l'eau chaude, soluble dans l'alcool, l'éther, l'ammoniaque et les alcalis.

L'acide sulfurique concentré colore en rouge amarante le philigénol et en rouge violet le philyroside ; l'acide nitrique l'attaque facilement en donnant des produits qui varient suivant la concentration de l'acide et la température à laquelle la réaction s'opère.

Le chlore, le brome et l'iode donnent des produits de substitution.

Le philyroside contient 4,7 p. 100 d'eau de cristallisation.

La formule brute du philyroside $C_{27}H_{34}O_{11}$ et celle du philygénol $C_{21}H_{24}O_6$ furent déterminées par BERTAGNINI et LUCA [4] en se basant sur les combustions de l'hétéroside et de ses produits de substitution d'une part, et sur la quantité de sucre obtenu au cours de l'hydrolyse fermentaire et acide d'autre part.

Le philyroside fond à $+ 160^\circ$ et se décompose vers $+ 250^\circ$.

EYKMANN, en 1886 [27], a voulu identifier le philyroside avec l'hétéroside qu'il avait extrait d'*Olea fragrans* Thumb et de *Forsythia suspensa* Vahl. Il s'est basé surtout sur la composition centésimale et la coloration que donnent les deux osides avec l'acide sulfurique. Il propose en conséquence, pour le philyroside la formule $C_{26}H_{32}O_{11}$, qu'il avait établie pour l'hétéroside extrait par lui des Oléacées.

Dans la littérature existant sur le philyroside, nous n'avons trouvé aucune indication sur son pouvoir rotatoire.

En examinant les travaux effectués sur le philyroside, on voit que les auteurs ne sont pas d'accord sur la formule de ce principe. Ce fait, ainsi que l'absence d'indications précises sur la composition chimique, nous a amenés à faire une étude nouvelle du philyroside.

Cette étude effectuée sur le produit préparé par nous-mêmes, nous a permis d'établir sa formule brute et de donner des indications sur sa structure chimique.

En appliquant la méthode que nous avons déjà employée dans l'étude de l'asébotoside (voir p. 17) nous avons pu hydrolyser complètement le philyroside par l'émulsine des amandes. Cette hydrolyse nous a fourni une molécule de sucre que nous avons pu identifier au glucose-*d*. Le produit non glucidique est un phénol, appelé philygénine par les anciens auteurs. Nous l'avons désigné sous le nom de philygénol, pour nous conformer à la nouvelle nomenclature, et nous avons précisé sa constitution chimique.

Nos recherches nous ont également permis de conclure que le philyroside n'est pas identique à l'hétéroside de *Forsythia suspensa* Vahl et d'*Olea fragrans* Thumb. isolé par EYKMANN.

En opérant l'extraction du philyroside à partir de *Philyrea latifolia* L., nous avons pu isoler un autre hétéroside. Nous l'avons étudié également et nous donnons les résultats de cette étude dans un chapitre ultérieur (voir p. 57).

CHAPITRE II.

Essais biochimiques de différents organes du *Philyrea latifolia* L.

A. — Rameaux

Les rameaux du *Philyrea latifolia* cueillis le 15 décembre à Versailles, ont été traités le même jour au Laboratoire.

100 g. de rameaux frais sont épuisés à l'alcool bouillant. L'extrait obtenu par évaporation de l'alcool est repris par 100 cm³ d'eau. On défèque au sous-acétate de plomb. Le liquide débarrassé de l'excès du plomb par l'hydrogène sulfuré est filtré et amené à 50 cm³. Le liquide nous a servi à effectuer des essais biochimiques à l'invertine et à l'émulsine.

Nous avons également fait une hydrolyse par l'acide sulfurique sur la liqueur ayant subi l'action de la sucrase de l'invertine. Les résultats obtenus figurent dans le tableau suivant (voir p. 37). 100 cm³ de liquide correspondant à 100 g. de plantes fraîches.

En examinant les résultats obtenus avec les rameaux, on voit que, sous l'action de la sucrase, il se produit un changement de déviation vers la gauche de 1°12' et que le sucre réducteur exprimé en glucose, augmente de 1 g.,800 pour 100 cm³. L'indice de réduction 568 est assez rapproché de celui du saccharose qui est de 604.

Sous l'action de l'émulsine, le retour de déviation vers la droite est de 5° ; la quantité de sucre réducteur formé exprimé en glucose est de 2 g.,694 pour 100 cm³. L'indice de réduction est de 539.

L'hydrolyse acide effectuée sur la liqueur après l'action de la sucrase provoque un changement de déviation vers la droite de 4°53' : la quantité de sucre réducteur formé est de 2 g.,754 pour 100 cm³ ; l'indice de réduction est de 565.

En comparant les résultats obtenus par l'action de l'émulsine et de l'acide sulfurique, on voit que les quantités du sucre ré-

ducteur formé sont sensiblement les mêmes. Les deux indices de réduction 539 et 565 sont très voisins.

B. — Feuilles.

Les feuilles d'un jeune arbuste cueilli le 2 avril, sont traitées le même jour au Laboratoire.

On applique la méthode bio-chimique de BOURQUELOT à l'invertine et à l'émulsine.

300 grammes de feuilles fraîches sont traitées comme dans les essais biochimiques du *Kalmia latifolia* L. (voir page 8).

Les résultats obtenus sont exprimés dans le tableau suivant (voir page 37). Ils correspondent à un liquide dont 100 cm³ représentent 100 g. de feuilles fraîches.

TABLEAU II.

	Rameaux	Feuilles
<i>Déviatiou.</i>		
Initiale.....	+ 1°58'	+ 16'
Après l'action de la sucrase.....	— 1°12'	— 56'
— — de l'émulsine.....	+ 3°48'	+ 54'
— l'hydrolyse acide.....	+ 3°40'	
<i>Sucre réducteur</i> (p. 100 cm ³).		
Initial.....	0,566	0,500
Après l'action de la sucrase.....	2,366	1,265
— — de l'émulsine.....	5,060	2,529
— l'hydrolyse acide.....	5,120	
<i>Par la sucrase.</i>		
Recul de déviation.....	3°10'	1°12'
Sucre réducteur formé.....	1,800	0,765
Indice de réduction.....	568	637
<i>Par l'émulsine.</i>		
Retour de déviation.....	5°	1°50'
Sucre réducteur formé.....	2,694	1,264
Indice de réduction.....	539	689
<i>Par l'hydrolyse acide.</i>		
Retour de déviation.....	4°52'	
Sucre réducteur formé.....	2,753	
Indice de réduction.....	565	

On observe sous l'action de la sucrase un recul de la déviation de $1^{\circ}12'$ vers la gauche ; il se forme 0 g.,765 de sucre réducteur, exprimé en glucose, pour 100 cm³. L'indice, qui est de 637, est assez voisin de celui du saccharose.

Sous l'action de l'émulsine, il se fait un changement de $1^{\circ}50'$ vers la droite, et le sucre réducteur augmente de 1 g.,264. L'indice de réduction est de 689, plus élevé que celui observé dans l'étude des rameaux (539).

Ces essais biochimiques mettent en évidence la présence d'une grande quantité de principes hydrolysables par l'émulsine. Ces principes sont plus abondants dans les rameaux que dans les feuilles.

Les essais d'extraction (voir page 40) nous ont montré que les rameaux contiennent deux hétérosides hydrolysables par l'émulsine. Il est difficile de tirer des renseignements précis de l'indice de réduction enzymolytique [13].

CHAPITRE II.

Le philyroside.

Préparation du philyroside. — Les rameaux coupés finement sont projetés dans l'alcool à 85° bouillant et épuisés à deux reprises avec ce solvant. Le marc est exprimé à la presse, les liqueurs alcooliques réunies et filtrées sont distillées de façon à récupérer l'alcool. La solution alcoolique filtrée et agitée à l'éther est divisée en quatre parties sur lesquelles nous avons effectué les essais d'extraction de l'hétéroside par divers procédés : en fixant les matières tanniques par l'acétate et le sous-acétate de plomb, par la chaux et par la magnésie.

Les procédés par l'acétate et le sous-acétate de plomb ne nous ont permis d'extraire que du mannitol. La défécation à la chaux, réalisée de diverses façons, a conduit finalement au philyroside, mais le rendement est mauvais et la durée de l'opération est considérable.

Par contre, le procédé à la magnésie nous a fourni de très bons résultats. Nous l'avons adopté pour préparer le philyroside pur qui nous a servi pour la présente étude.

Nous opérons ainsi : le liquide aqueux d'extraction, dont 100 cm³ correspondent à 100 g. de rameaux frais, est additionné de magnésie calcinée légère à raison de 10 g. de magnésie pour 100 cm³ de liquide extractif. La masse fluide obtenue est versée dans des cuvettes plates sur une épaisseur d'environ 1 cm et desséchée à une douce chaleur. La masse jaune obtenue, recouverte d'une laque verdâtre, est très facile à pulvériser. Trois épuisements à l'alcool chaud permettent d'enlever l'hétéroside de la poudre.

La magnésie retient les matières tanniques et la solution alcoolique est limpide, légèrement jaune. On l'évapore à sec et on reprend le résidu par l'eau. La solution aqueuse concentrée laisse cristalliser rapidement l'hétéroside.

Nous avons tenté l'extraction directe du philyroside, sans défécation préalable. Nous avons opéré sur un liquide extractif très concentré, épuisé soigneusement à l'éther,

En l'amorçant avec du philyroside et en l'abandonnant au frais, nous avons pu retirer une petite quantité du corps cherché. Après purification, ce corps a pu être identifié par ses constantes physiques avec le philyroside isolé après défécation à la magnésie. La magnésie n'altère donc pas ce produit : elle permet un bien meilleur rendement.

1800 g. d'écorce nous ont fourni 28 g.,5 de produit brut, soit 1 g.,58 pour 100 g. d'écorce fraîche. Il faut toutefois remarquer que le rendement varie beaucoup suivant la saison et suivant la provenance des plantes, comme nous avons pu l'observer au cours de diverses extractions.

Purification. — On dissout le produit brut dans un litre d'eau distillée bouillante et on filtre à chaud. Le philyroside se dépose par refroidissement. Etant très peu soluble dans l'eau, la purification est facile et ne comporte qu'une perte assez faible.

Les eaux-mères du philyroside contiennent un autre hétéroside dont il sera question plus loin (voir chapitre IV).

Propriétés physiques. — Le philyroside cristallisé dans l'eau et séché à l'air se présente en écailles brillantes, à reflet argenté. Il est incolore et inodore.

Au microscope, le philyroside se présente en tablettes cristallines réfringentes.

Il possède une saveur amère à peine perceptible d'abord, mais qui s'accroît ensuite.

La solution aqueuse est neutre en réactifs colorés. Il est insoluble dans le bicarbonate et le carbonate de sodium, dans la soude et dans l'ammoniaque.

Desséché, à poids constant, à $+ 60^{\circ}$, dans le vide, dans l'appareil de BOUILLOT [9], le philyroside perd 4,76 p. 100 d'eau de cristallisation, sans s'altérer.

Exposé à l'air, il reprend son eau de cristallisation.

Au bloc MAQUENNE il fond nettement à 162° .

Il est *dextrogyre*. Son pouvoir rotatoire déterminé en solution dans l'alcool à 95° est de $[\alpha]_D = + 44^{\circ},62$ ($p = 0,4107$; $v = 50$; $l = 4$; $d = + 1^{\circ}32'$). Ce qui donne $[\alpha]_D = + 46^{\circ},71$ pour le produit anhydre.

Son pouvoir rotatoire déterminé en solution dans l'acide acétique anhydre est de $[\alpha]_D = + 44^{\circ},25$ ($p = 0,1882$; $v = 20$; $l = 2$; $\alpha = + 50^{\circ}$) ce qui donne pour le produit anhydre $[\alpha]_D = + 46^{\circ},25$.

Solubilités. — La solubilité du philyroside dans les différents solvants a été déterminée à la température du laboratoire ($+ 18^{\circ}$ $+ 20^{\circ}$) par agitation du corps finement pulvérisé avec les divers solvants.

100 g. de liquide dissolvent	Philyroside anhydre, dissous
Eau distillée	0 g.,04
Alcool à 95°	0 g.,35
Alcool à 50°	0 g.,69
Alcool à 25°	0 g.,14
Alcool méthylique à 99°	0 g.,40
Ester acétique anhydre	0 g.,10
Ester acétique hydraté	0 g.,20
Acétone	0 g.,66
Chloroforme	0 g.,11

On peut exprimer les résultats sous la forme suivante :

1 g. de philyroside est soluble à $+ 18^{\circ} + 20^{\circ}$ dans :
 143 g. d'alcool éthylique à 50° .
 151 g. d'acétone.
 245 g. d'alcool méthylique.
 280 g. d'alcool éthylique à 95° .
 501 g. d'ester acétique hydraté.
 706 g. d'alcool éthylique à 25° .
 932 g. de chloroforme.
 961 g. d'ester acétique anhydre.
 2374 g. d'eau distillée.

Le philyroside est insoluble dans l'éther anhydre. Sa solubilité dans l'eau, extrêmement faible à $+ 18^{\circ} + 20^{\circ}$; croît considérablement avec l'augmentation de la température. Cette propriété est mise à profit pour la purification de philyroside.

Propriétés chimiques. — Les acides chlorhydrique et acétique dissolvent le philyroside à froid, sans coloration ni dégagement de vapeurs. L'acide nitrique se colore fortement en jaune en donnant des dérivés nitrés (BERTAGNINI).

Le philyroside ne présente pas de réactions colorées caractéristiques quand on le traite par l'eau de brome, la soude, l'ammoniaque, le perchlorure de fer dilué.

Réaction de coloration. — Si on dissout 5 mg. de philyroside dans 2 cm³ d'acide sulfurique concentré, il se développe à froid

une teinte jaune passant rapidement au brun violacé, puis au rouge et au violet pourpre.

La solution de l'oside dans l'acide acétique additionnée d'une goutte d'acide sulfurique concentré donne un anneau violet.

Le philyroside est hydrolysé par l'acide sulfurique dilué, par l'émulsine et par la poudre fermentaire d'*Aspergillus niger*.

Il n'est hydrolysé ni par le ferment lactique, comme l'ont prétendu BERTAGNINI et LUCA [4], ni par la levure basse préparée suivant la méthode indiquée par MM. Em. BOURQUELOT, H. HÉRISSEY et M. BRIDEL [16].

Hydrolyse sulfurique. — L'hydrolyse est effectuée en tube scellé au bain-marie bouillant, avec l'acide sulfurique à 3 p. 100. On pèse le produit directement dans le tube, on ajoute de l'acide et on ferme à la lampe.

La dissolution se fait lentement, au bout d'une vingtaine de minutes environ, en agitant. Peu après, on observe la formation d'un produit blanchâtre, qui se colore en brun par chauffage prolongé, puis se dépose au fond du tube en formant une gouttelette huileuse jaune, qui se colore ensuite en brun. Par refroidissement, la gouttelette se prend en masse compacte. Le produit de dédoublement non glucidique est donc attaqué au cours de l'hydrolyse acide, il est difficile de l'isoler à l'état cristallisé.

Le produit non glucidique étant séparé par filtration sur un creuset de GOOCH taré, le dosage du sucre réducteur est effectué dans la solution par la méthode de M. Gabriel BERTRAND [5].

Durée de l'hydrolyse	Philyroside anhydre p. 100 cm ³	S. R. formé p. 100 cm ³	(α) ₀	S. R. formé p. 100 g. de l'oside	Philygénol p. 100 g. de l'oside
1 h.	0 g.,927	0 g.,315	+ 58°,2	33 g.,92	67 g.,96
2 h.	0 g.,928	0 g.,270	+ 77°,1	29 g.,07	
2 h. 30	1 g.,197	0 g.,341	+ 78°,1	28 g.,48	
2 h. 30	0 g.,926	0 g.,266	+ 78°,2	28 g.,70	64 g.,20

L'hydrolyse est donc terminée au bout d'une heure. Si l'on prolonge la réaction, le pouvoir réducteur du sucre formé est abaissé en même temps que le pouvoir rotatoire augmente.

On peut admettre que ce dernier fait est dû à la présence des produits de décomposition du philygénol qui est très fortement dextrogyre $[\alpha]_D = + 121^\circ$ (voir page 48).

Hydrolyse par l'émulsine à 32°. — L'hydrolyse par l'émulsine est réalisée suivant la méthode de M. BRIDEL [19].

0 g.,5801 de philyroside hydraté, correspond. à 0 g.,5526 de produit anhydre, et 0 g.,58 d'émulsine d'amandes, très finement pulvérisés, sont repris par 50 cm³ d'eau toluénée ; l'hydrolyse est effectuée dans l'étuve à 32°, en agitant plusieurs fois par jour. D'autre part, on fait un essai témoin avec la même quantité d'émulsine seule.

Nous avons obtenu les résultats suivants (déduction faite de la rotation gauche due à l'émulsine) :

Durée de l'hydrolyse	Rotation	S. R. formé p. 100 cm ³	S.R. formé p. 100 g. de l'oside anhydre	Philygénol p. 100 g. de l'oside
4 jours	13'	0 g.,371	33 g.,53	
8 jours	13'	0 g.,375	33 g.,89	69 g.,74

Le philyroside ayant donné 33 g.,92 p. 100 de sucre réducteur par hydrolyse acide, l'hydrolyse par l'émulsine peut être considérée comme complète.

Le précipité blanc qui s'est formé dans le liquide au cours de l'hydrolyse, contient le produit non glucidique, le philygénol, mélangé à la partie non soluble de l'émulsine.

Pour isoler et doser le philygénol, on verse le contenu du flacon dans 150 cm³ d'alcool à 95° bouillant. Le philygénol se dissout facilement ; on essore sur un filtre de BUCHNER pour séparer l'émulsine. La solution alcoolique, distillée sous pression réduite, laisse déposer le philygénol sous forme d'un extrait blanc. On l'agite à plusieurs reprises à l'éther. Par évaporation de ce dernier, nous avons obtenu 0 g.,367 de philygénol, ce qui représente 66 g.,36 p. 100 de l'hétéroside. La solution aqueuse contenant le produit glucidique, agitée à l'éther, cède encore à ce solvant 3 g.,37 p. 100 de philygénol, ce qui nous donne en tout 69 g.,74 de philygénol p. 100 de philyroside anhydre.

Hydrolyse par l'*Aspergillus niger*. — L'hydrolyse est réalisée de la façon suivante : 0 g.,50 de poudre d'*Aspergillus niger* cultivé sur une solution de RAULIN surnitraté et traité à l'alcool, est délayée dans 50 cm³ d'eau toluénée ; on ajoute 0 g.,50 de philyroside à 4,7 p. 100 d'eau, et on abandonne à l'étuve à 32° en agitant deux fois par jour.

Les résultats de cette analyse se trouvent dans le tableau suivant ;

Durée de l'hydrolyse	Rotation α_D^{20}	S. R. formé pour 1000 cm ³	S. R. p. 100 g. du hétéroside anhydre
5 jours	+ 12'	0,326	34,1
8 jours	+ 12'	0,326	34,1

Comme on le voit, la poudre d'*Aspergillus niger* hydrolyse complètement le philyroside.

Pour extraire le produit non glucidique obtenu au cours de cette hydrolyse, nous avons opéré de la même façon que pour celui obtenu par l'hydrolyse au moyen de l'émulsine. Nous avons isolé 0 g.,33 de produit (ce qui représente 69 g.,3 pour 100 g. de philyroside anhydre) identique au philygénol obtenu dans la réaction précédente.

Fermentation lactique. — En nous basant sur les affirmations de BERTAGNINI et LUCA [4], nous avons essayé l'action du ferment lactique sur le philyroside (1).

La réaction est réalisée de la façon suivante : 2 g. de philyroside, finement pulvérisés et additionnés de 3 g. de carbonate de calcium, sont délayés dans 200 cm³ d'un bouillon formé par un autolysat de levure des boulangers à 10 p. 100.

On stérilise par ébullition à l'autoclave à 120° pendant 15'. On laisse refroidir et on ensemence au moyen d'une pipette stérilisée avec une culture de *BACILLUS DELBRUCKI* (*Bacillus longissimus*) ; le matras est abandonné à l'étuve à + 32°.

Essai témoin. — 2 g. de lactose sont traités de la même façon afin de constituer un essai témoin.

En examinant le contenu des deux matras après 12 heures, on constate une fermentation vive dans l'essai témoin, tandis que l'essai I ne présente pas de réaction apparente.

On verse alors 50 cm³ du bouillon témoin en pleine fermentation dans l'essai I pour amorcer la réaction sur l'hétéroside. On n'observe aucune fermentation.

Dans l'essai témoin, un dosage de sucre réducteur nous a permis de constater la disparition des trois quarts du lactose.

Après 5 jours de fermentation, on évapore la solution à siccité sous pression réduite. Le résidu est repris par l'alcool à 95° à l'ébullition. La solution filtrée est distillée sous pression réduite à faible volume. On laisse refroidir et on recueille le phi-

(1) Le ferment lactique nous a été fourni par M. SCHOEN de l'Institut Pasteur ; nous lui exprimons ici nos sincères remerciements.

lyroside précipité sur un creuset de Gooch taré. Partant de 2 g. de philyroside, nous avons récupéré 1 g.,96 de produit dont le point de fusion est de 162° (point de fusion du philyroside pur).

Cette réaction montre que le philyroside n'est pas attaqué par le ferment lactique, contrairement à ce qu'affirment BERTAGNINI et LUCA. Il faut admettre que ces auteurs n'ont pas opéré dans des conditions aseptiques et que l'hydrolyse qu'ils ont observée est due à la présence d'un autre ferment, l'*Aspergillus niger* par exemple. Une culture pure de ferment lactique est sans action sur le philyroside.

Essai d'hydrolyse par la levure basse séchée à l'air. — Le ferment est préparé suivant la méthode indiquée par Em. BOURQUELOT, H. HÉRISSEY et M. BRIDEL [16].

L'activité du ferment est essayée sur le méthylglucoside- α .

L'essai est effectué dans les conditions suivantes :

Philyroside hydraté	0 g.,51
Extrait concentré de levure basse..	9 cm ³
Eau Q. S. pour	50 cm ³

On abandonne à la température du laboratoire (20°-22°), en agitant souvent, pendant trois mois. Nous n'avons observé aucune hydrolyse. La glucosidase- α est sans action sur le philyroside.

Etude des produits obtenus au cours des hydrolyses acide et fermentaire du philyroside : produits glucidique et non glucidique.

A. Le sucre du philyroside. — Pour extraire le sucre formé au cours de l'hydrolyse acide, nous procédons de la façon suivante : 2 g.,5 de philyroside sont chauffés pendant 15' au réfrigérant ascendant, avec 50 cm³ d'acide chlorhydrique à 3 p. 100. Au bout de ce temps, le produit de dédoublement se dépose au fond du ballon en masse jaune compacte. On filtre et on neutralise la liqueur filtrée par du carbonate de plomb. Le filtrat est évaporé à sec sous pression réduite, sans dépasser 50°. L'extrait est repris deux fois, à l'ébullition, par 50 cm³ d'alcool à 95° ; la liqueur obtenue est concentrée à faible volume. Après un repos de 24 heures, la solution alcoolique cristallise.

On recueille les cristaux et on les sèche dans le vide sulfurique.

Le produit fond au bloc MAQUENNE à 146°-147°.

Au microscope il se présente en cristaux prismatiques caractéristiques du glucose. En solution aqueuse, il possède la mutarotation descendante et son pouvoir rotatoire stable est de $[\alpha]_D = +52^{\circ},25$ ($p = 0$ g.,0630 ; $v = 10$; $l = 2$, $= +40^{\circ}$).

Le dosage du sucre réducteur de cette solution effectué par la méthode de M. Gabriel BERTRAND [5] donne 0 g.,0630.

Sucre d'hydrolyse diastasique. — Pour extraire le sucre formé par l'émulsine, nous avons opéré sur le liquide provenant de l'hydrolyse de 5 g. de philyroside.

Le liquide est épuisé à plusieurs reprises par 300 cm³ d'éther ordinaire légèrement hydraté qui dissout le principe non glucidique dont il sera question plus loin (voir page 47).

La solution aqueuse légèrement jaune est évaporée à siccité sous pression réduite, à 50°. Le résidu sirupeux, fortement coloré en jaune, réduit la liqueur cupropotassique et le nitrate d'argent ammoniacal. Traité par l'acide chlorhydrique en présence d'orcinol, suivant la technique de M. G. BERTRAND [6, 7] le sirop donne une coloration rouge-orangée, caractéristique des hexoses.

Extraction du glucose. — Après quelques insuccès, nous avons pu faire cristalliser le sucre ; il a pu être identifié d'après ses constantes physiques et chimiques avec le glucose-*d*. Nous avons opéré de la façon suivante :

Le sirop, obtenu après l'évaporation de la solution aqueuse du sucre est épuisé, à chaud, à deux reprises, par 50 cm³ d'alcool méthylique à 98° qui élimine des impuretés. La solution fortement colorée en jaune, est évaporée à sec ; le résidu est épuisé par 50 cm³ d'alcool à 95°, à chaud.

Après concentration, le glucose cristallise.

Après quelques jours de repos le produit est recueilli sur un filtre de BUCHNER, lavé à plusieurs reprises à l'alcool absolu et séché dans le vide. Les eaux-mères concentrées laissent déposer une nouvelle quantité de produit.

Au microscope, il se présente en cristaux prismatiques. En solution aqueuse, il possède la mutarotation descendante, et son pouvoir rotatoire stable est de $[\alpha]_D = +51^{\circ},7$ ($p = 0$ g.,0612 ; $v = 10$; $l = 2$; $\alpha = +38^{\circ}$).

Le pouvoir réducteur de cette solution mesuré par la méthode de M. Gabriel BERTRAND, est de 0 g.,0602.

Préparation d'une osazone. — On chauffe au bain-marie pendant une heure dans un tube à essai, 0 g.,05 de produit en solution dans 5 cm³ d'eau avec 5 cm³ d'acétate de phénylhydrazine. L'osazone se dépose à chaud. On laisse refroidir, on filtre et on lave à l'eau, puis à l'alcool méthylique, à plusieurs reprises. On sèche les cristaux entre plusieurs feuilles de papier filtre.

Le point de fusion pris sur le bloc MAQUENNE est de + 220°.

Le sucre isolé présente donc les propriétés du glucose-*d*.

Le philyroside de pouvoir rotatoire dextrogyre est très rapidement hydrolysé par l'émulsine des amandes, en donnant du glucose-*d* et du philygénol. Comme nous le verrons, le philygénol est très fortement dextrogyre ; l' $[\alpha]_D$ du philyroside est peut être rendu dextrogyre par ce fait. Nous pensons que c'est bien la glucosidase- β de l'émulsine qui agit dans ce cas bien qu'on ne l'ait vu agir jusqu'à présent que sur des glucohéterosides lévogyres.

B. — Le philygénol.

Le produit de dédoublement non glucidique étant attaqué au cours de l'hydrolyse acide, il est très difficile de l'obtenir à l'état pur et cristallisé. Par contre, l'hydrolyse par l'émulsine fournit le philygénol très pur et cristallisé. Nous avons préparé le produit par l'hydrolyse diastasique.

Préparation. — 5 g. de philyroside sont hydrolysés dans les conditions indiquées plus haut (voir page 42).

On obtient 3 g.,45 de philygénol à peu près pur, fondant à + 134°.

Purification. — Le philygénol est dissous dans 150 cm³ d'alcool à 50° à l'ébullition. On le précipite en ajoutant à cette solution le même volume d'eau froide. On obtient ainsi le produit très pur.

Propriétés physiques. — Le philygénol pur se présente en belles aiguilles brillantes, à reflet argenté, très légères.

Au microscope, le philygénol se présente sous forme de petits prismes rectangulaires, très aplatis, souvent accolés.

Il possède une légère odeur de rance. Sa saveur est très légèrement amère.

Au bloc MAQUENNE il fond nettement à $+ 134^{\circ},5$.

Il cristallise anhydre : il ne perd pas de poids quand on le chauffe à 80° , dans le vide, dans l'appareil de BOUILLOT [9].

Il ne réduit pas la liqueur cupro-alcaline, ni à froid, ni à chaud.

Il est fortement dextrogyre. En solution dans l'alcool à 95° , son pouvoir rotatoire est de :

$$[\alpha]_D = + 121^{\circ},70 \quad (p = 0,4930 ; \nu = 50 ; l = 5 ; \alpha = + 6^{\circ}).$$

En solution dans l'acide acétique son pouvoir rotatoire est de :

$$[\alpha]_D = + 95^{\circ},35 \quad (p = 0 \text{ g.}, 1976 ; \nu = 8,832 ; l = 2 ; \alpha = + 4^{\circ}16').$$

Il est pratiquement insoluble dans l'eau froide, peu soluble dans l'eau bouillante, soluble dans l'alcool, l'acétone, l'éther ordinaire, le chloroforme, et le tétrachlorure de carbone.

L'acide chlorhydrique concentré le dissout à l'ébullition ; le liquide laisse déposer un précipité rougeâtre, vitreux, fondant vers 180° . C'est probablement un produit de condensation formé sous l'action de l'acide chlorhydrique.

L'acide acétique dissout le philygénol en toutes proportions ; par évaporation du solvant, on récupère le produit inaltéré.

Propriétés chimiques. — Le philygénol n'est pas soluble dans les alcalis concentrés, l'ammoniaque et le bicarbonate de sodium ni à froid, ni à chaud. Il se dissout par contre dans les alcalis dilués. Le carbonate de sodium le dissout à chaud ; après refroidissement de la solution, il précipite.

Réactions de coloration. — Traité par l'acide sulfurique concentré, le philygénol donne une coloration rouge-amarante, virant au violet-pourpre par chauffage.

L'acide nitrique colore le philygénol en jaune en donnant des dérivés mono- et dinitrés, suivant la concentration de l'acide et la température à laquelle on opère [3].

Analyse élémentaire et composition centésimale du philyroside.

Le philyroside chauffé sur une lame de platine, fond, charbonne et brûle sans résidu. Il ne contient pas d'azote.

Les combustions sont effectuées sur le philyroside cristallisé renfermant 4 g.,76 p. 100 d'eau, en tube ouvert, dans un double courant d'oxygène. Elles ont donné les résultats suivants (déduction faite du poids d'eau existant dans le produit cristallisé).

Philyroside anhydre en g.	CO ₂ en g.	H ₂ O en g.	C p. 100	H p. 100
0,1540	0,3422	0,0895	60,60	6,42
0,0916	0,2042	0,0526	60,69	6,38
0,1194	0,2656	0,0677	60,66	6,30

Poids moléculaire. — Le philyroside possède plusieurs fonctions phénol étherifiées par des groupements méthyle. Nous avons mis à profit cette propriété pour la détermination du poids moléculaire. Les dosages effectués par la méthode de ZEISEL ont donné les résultats suivants :

Philyroside anhydre en g.	Poids de AgI en g.	Poids de OCH ₃ p. 100
0,1180	0,1490	16,71
0,0972	0,1270	17,29

En admettant trois groupements OCH₃, nous calculons le poids moléculaire suivant :

$$\text{P.M.} = \frac{180 \times 31 \times 3}{17} = 547$$

Si on calcule le poids moléculaire d'après la teneur en sucre réducteur, on obtient :

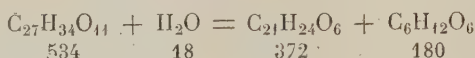
$$\text{P.M.} = \frac{180 \times 100}{33,9} = 531$$

Formule. — En s'appuyant sur les données précédentes, nous proposons pour le philyroside anhydre la formule C₂₇H₃₄O₁₁.

	Trouvé en moyenne	Calculé
Poids moléculaire	539	534
C. p. 100	60,68	60,67
H. p. 100	6,37	6,36
OCH ₃ p. 100	17,00	17,41

Cette formule correspond à celle proposée par BERTAGNINI et LUCA [4].

L'équation d'hydrolyse du philyroside serait ainsi :



La formule de BERTAGNINI et LUCA est donc seule exacte.

Poids moléculaire du philygénol. — Le poids moléculaire est déterminé par cryoscopie et par dosage des groupements méthoxyle.

Cryoscopie. — Le philygénol n'étant pas soluble dans l'eau, cette opération est réalisée en solution, dans l'acide acétique.

Philygénol p. 100 g d'eau = 2,120

$\Delta = 0^{\circ},220$

$$\text{P.M.} = \frac{39 \times 2,120}{0,220} = 375$$

Dosage des groupements méthoxyle. — Les dosages sont effectués par deux procédés différents, par la méthode macrochimique de ZEISEL et par la méthode microchimique de PREGL. Les microanalyses ont été effectuées par M. J. RABATÉ. Nous lui exprimons nos sincères remerciements.

Les résultats des dosages sont les suivants :

I. — Méthode de ZEISEL.

Philygénol en g.	Poids de Ag. I en g.	Poids de OCH ₃ pour 100 g. de philygénol en g.
0,2037	0,3725	24,22

II. — Méthode de PREGL.

Philygénol en mg.	Poids de Ag. I en mg.	Poids de OCH ₃ pour 100 g. de philygénol en g.
3,533	6,609	24,60
2,055	3,863	24,80

Le résultat moyen obtenu par les deux méthodes est de 24 g.,54 pour 100 g. de philygénol.

En se basant sur ce résultat et en admettant la présence de trois groupements OCH₃, le poids moléculaire calculé par cette méthode est de :

$$\text{P.M.} = \frac{100 \times 93}{24,54} = 379$$

Composition centésimale du philygénol. — L'analyse a été faite sur le produit anhydre, dans les mêmes conditions que pour le philyroside.

Philygénol anhydre en g.	CO ₂ en g.	H ₂ O en g.	C p. 100	H p. 100
0,1768	0,4346	0,0990	67,04	6,22

L'analyse par la méthode microchimique (1) donne les résultats suivants :

Philygénol anhydre en mg.	CO ₂ en mg.	H ₂ O en mg.	C p. 100	H p. 100
4,400	10,950	2,620	67,86	6,61

En se basant sur ces résultats, on peut proposer pour le philygénol la formule C₂₁H₂₄O₆.

Trouvé en moyenne		Calculé pour C ₂₁ H ₂₄ O ₆	
Poids moléculaire.....	377	Poids moléculaire.....	372
C p. 100.....	67,45	C p. 100.....	67,74
H p. 100.....	6,42	H p. 100.....	6,45
OCH ₃ p. 100.....	24,54	OCH ₃ p. 100.....	25,0

Cette formule est en accord avec la formule du philyroside découlant de nos analyses ; elle correspond également à celle établie par BERTAGNINI et LUCA. La formule du philyroside proposée par EYKMANN (C₂₆H₃₂O₁₁) doit donc être définitivement rejetée.

Recherche des groupements fonctionnels. — Ces recherches sont effectuées sur le philygénol obtenu au cours de l'hydrolyse diastasique.

La courbe d'absorption dans l'ultra-violet (voir page 52) indique un produit à noyau benzénique [56].

Nous avons pu caractériser trois fonctions ester méthylique et une fonction phénol libre.

Les recherches des fonctions cétone, aldéhyde, carboxyle et des doubles et triples liaisons sont négatives.

Caractérisation de la fonction phénol. — 1° *Action des alcalis.* — Le philygénol est soluble dans la lessive de soude diluée tandis qu'il est insoluble dans l'eau. Il est également insoluble dans une solution de bicarbonate de sodium, ce qui montre que ce n'est pas un acide organique.

(1) Les microanalyses sont effectuées par M. le docteur WEIL,

2° *Action de métavanadate d'ammonium.* — Le philygénol traité par une solution à 0,5 pour 100 de métavanadate d'ammonium dans l'acide sulfurique donne une coloration verte qui vire au brun après la neutralisation à la potasse.

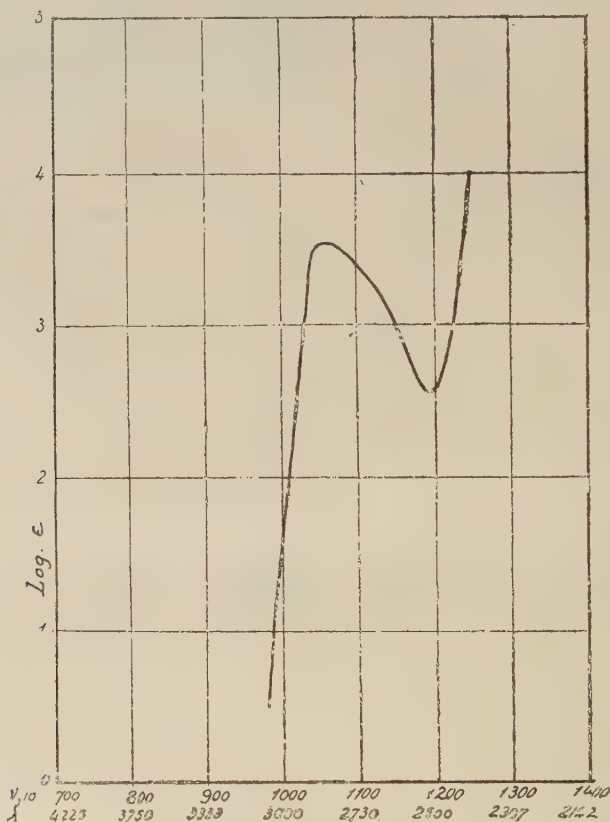


FIGURE II. — Philyroside.

3° *Diazotation.* — Une solution alcaline de philygénol traitée par une solution de diazobenzène et acidulée par l'acide chlorhydrique, donne naissance à un précipité jaune.

Cette réaction, qui donne naissance aux colorants diazotés, est spécifique des phénols monovalents et des phénols bivalents, dont les deux groupements hydroxylés se trouvent en position méta. Les réactions ultérieures suivies de dosages, nous ont permis de démontrer la présence d'un seul groupement hydroxyle.

4° *Méthylation.* — 0 g.,45 de philygénol sont méthylés sous l'action de 2 cm³ de sulfate de méthyle, additionnés de 3 cm³ de soude à 15 p. 100. On chauffe à reflux pendant 5 minutes.

Au bout de ce temps, on observe la formation d'une couche huileuse surnageante, constituée par le dérivé méthylé du philygénol. On la décante et on la dissout par agitation dans l'éther ordinaire. L'extrait étheré, coloré en jaune et légèrement fluorescent, est évaporé à sec. Le produit rose obtenu fond à 86°.

Pour le purifier, on le dissout dans de l'alcool à 95°, on filtre et on précipite par addition d'eau. Le produit essoré sur un filtre de BUCHNER et, desséché à l'air fond à + 108° sur le bloc MAQUENNE.

Il est très soluble dans l'alcool et l'éther et insoluble dans l'eau.

Le dosage des groupements méthoxyle est effectué sur ce produit par la méthode de ZEISEL.

Méthoxyphilygénol en g.	Poids Ag. f en g.	Poids OCH ₃ pour 100 g. du produit
0,0659	0,1781	35,9

La théorie pour 4 OCH₃ est de 32,8. Comme il y a 3 OCH₃ dans le philygénol, il n'y a qu'une seule fonction OH libre, susceptible d'être méthylée par le sulfate de méthyle.

5° *Dosage d'acétyle.* — Cette opération est réalisée suivant la méthode de A. VERLEY et F. BOELSING [74] modifiée par R. DELABY et Y. BREUGNOT [25].

Elle est conduite de la façon suivante :

0 g.,5030 de philygénol sont additionnés de 10 cm³ de mélange acétylant composé de 1 partie d'anhydride acétique et de 2 parties de pyridine. La fiole conique est fermée par un bouchon de caoutchouc, surmonté d'une canne de verre formant réfrigérant. On chauffe au bain-marie à 100°, pendant une heure. On obtient ainsi une estérification quantitative de la fonction phénol ou alcool.

Pour déterminer la quantité des fonctions phénol acétylées, on ajoute 30 cm³ d'eau et on titre avec la soude demi-normale en présence de phénolphthaléine l'anhydride acétique non combiné. D'autre part, on fait un essai témoin et on détermine ainsi la quantité d'anhydride acétique employée,

Nous avons trouvé que 1 g. de philygénol consomme 0 g.,24 d'anhydride acétique. La quantité d'anhydride calculée pour une fonction hydroxyle du philygénol étant de 0 g.,27, nous avons admis la présence d'un seul oxhydryle libre dans la molécule de ce produit.

II. — Caractérisation des fonctions métoxyées.

Nous avons déjà vu, à propos de l'analyse élémentaire (voir page 50) que le philygénol renferme trois groupements méthoxylés.

Essais de décomposition du philygénol.

Action de l'eau. — 0 g.,10 de philygénol sont chauffés avec 10 cm³ d'eau en tube scellé, à 100°, pendant 12 heures. Au bout de ce temps, on ouvre le tube et on évapore la solution ; le point de fusion du produit obtenu, est celui du philygénol pur. Il n'est donc pas altéré par chauffage avec de l'eau seule.

Action de l'acide sulfurique dilué. — 0 g.,10 de philygénol chauffé en tube scellé, à + 100°, avec 10 cm³ d'acide sulfurique à 3 p. 100, pendant 3 heures, se colore en rose et se rassemble au fond du tube en formant une gouttelette solide ; le produit pulvérisé fond à + 66°. Purifié par dissolution dans l'alcool et précipitation par l'eau froide, il cristallise ; il fond à + 129°. On peut remarquer que le philygénol ainsi traité avec l'acide sulfurique est moins profondément attaqué que dans le cas de l'hydrolyse acide de l'hétéroside. Dans ce dernier cas, l'acide sulfurique agit sur le philygénol naissant, plus vulnérable.

Hydrolyse barytique. — La réaction est réalisée suivant la méthode de H. HLASIVETZ [37] modifiée par M. BOUGAULT [8]. Le philygénol reste blanc. On le dissout dans l'acide chlorhydrique et on le reprend par l'éther. Après l'évaporation de ce dernier, on récupère le philygénol inaltéré. La baryte sous pression, à la température de + 120°, est sans action sur le philygénol.

Nous avons alors essayé la décomposition du philygénol par une méthode plus brutale, la fusion alcaline.

Fusion alcaline. — Cette réaction est effectuée suivant la méthode de H. HLASIVETZ et PFAUNDLER [38] légèrement modifiée.

On fait fondre dans un creuset d'argent :

- 10 g.,5 de philygénol.
- 2 g. de potasse.
- 2 cm³ d'eau.
- 0 g.,01 d'oxyde de manganèse, comme catalyseur.

En chauffant vers 150° le mélange devient vert, puis brunit, vers 220 -240°, il fond. On maintient cette température pendant quelques instants, on laisse refroidir et on reprend le produit de la fusion par de l'eau distillée. Acidulée par de l'acide chlorhydrique au dixième, la solution laisse déposer un précipité abondant. On agite à l'éther et on obtient un extrait fortement coloré.

Après évaporation on obtient un résidu cristallin qui, dissout dans l'eau, présente une réaction acide. On le neutralise par addition du carbonate de calcium, on filtre et on agite à l'éther la solution aqueuse encore tiède. Il ne passe rien dans ce solvant. La fusion alcaline n'a donc pas donné de produits de nature phénolique.

La solution aqueuse, acidulée par l'acide chlorhydrique et agitée à l'éther, cède à ce dernier un produit coloré en brun.

Plusieurs purifications dans l'eau chaude en présence du noir animal, permettent d'isoler le produit provenant du dédoublement du philygénol par la potasse.

Propriétés physiques. — Essoré sur un filtre de BUCHNER, lavé à l'eau et desséché dans le vide, le produit se montre sous forme d'une poudre cristalline légèrement grisâtre.

Au microscope, il se présente en prismes rhomboidaux.

Au bloc MAQUENNE, il fond à 203°-204°.

Propriétés chimiques. — 1° Une solution aqueuse du produit additionnée de quelques gouttes de chlorure ferrique au dixième, donne une coloration verte qui passe au violet quand on ajoute du bicarbonate de sodium.

2° Le produit réduit fortement le nitrate d'argent ammoniacal, mais ne réduit pas la liqueur cupro-alcaline.

3° La solution de son sel de calcium se colore en rouge-violet, par addition de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré,

4° La solution aqueuse du produit précipite sous l'action du sous-acétate de plomb ; le précipité est soluble dans l'acide acétique.

Les réactions énumérés sont données par l'acide protocatéchique.

Le point de fusion de cet acide (199°) est très voisin de celui de l'acide obtenu à partir du philygénol. La fusion alcaline du philygénol fournit donc de l'acide protocatéchique.

La distillation sur la poudre de zinc et les oxydations chromique et permanganique ne nous ont pas permis d'isoler de produits définis.

CHAPITRE IV.

Etude du philéoside et son identification avec le syringoside.

Nous avons déjà mentionné (voir page 40) que l'écorce de *Philyrea latifolia* L. contient à côté du philyroside un second hétéroside. Nous avons pu l'isoler à l'état pur. Pour la commodité de l'exposé nous l'avons désigné provisoirement sous le nom de *philéoside*. Nous verrons à la fin de ce chapitre que cet hétéroside n'est pas un principe nouveau.

Dans ce chapitre nous donnons sa préparation et l'étude de ses propriétés physiques et chimiques.

Le philéoside est lévogyre. Sous l'action de l'émulsine des amandes il donne un produit non glucidique, que nous avons appelé *philéol* et du glucose-*d*. Le philéoside doit être rangé dans la classe des glucohétérosides- β .

Au cours de l'étude du philéoside nous avons été amenés à penser à une identité de ce dernier avec le syringoside (syringine). D'ailleurs, M. W. RUSSELL [60] signale la présence de ce principe dans toutes les plantes de la famille des Oléacées. Il ne l'a pas isolé à partir de *Philyrea* mais décelé microchimiquement par les réactions de coloration avec l'acide sulfurique et l'acide nitrique.

M. le Professeur HÉRISSEY a eu l'amabilité de nous donner un échantillon de syringoside isolé par lui de *Ligustrum lucidum* Buch. Nous lui exprimons ici notre profonde reconnaissance. Nous avons pu comparer quelques propriétés physiques et chimiques des deux produits. Etant donné la faible quantité de matières dont nous disposions, nous n'avons pu pousser assez loin cette étude comparative, mais toutes les réactions effectuées prouvent une identité des deux principes.

Préparation du philéoside. — La préparation du philéoside brut est relativement facile, mais la purification est très difficile à effectuer puisqu'il faut le séparer non seulement du philyro-

side, mais également du mannitol, très abondant dans l'écorce de *Philyrea*. Le philyroside, grâce à sa faible solubilité dans l'eau froide, s'élimine de la solution contenant le philéoside ; ce dernier est très soluble dans l'eau chaude et ne cristallise à froid que dans une solution très concentrée ; par contre, les solubilités du philéoside et mannitol ne diffèrent pas suffisamment pour permettre la séparation des deux principes.

Après avoir essayé successivement de nombreuses méthodes de purification, à l'aide de solvants différents, nous avons adopté le mode préparatoire suivant, qui nous a permis d'obtenir un produit pur, à point de fusion stable.

Mode opératoire. — Comme dans la préparation du philyroside (voir page 39) nous avons déféqué à la magnésie calcinée légère la liqueur extractive aqueuse provenant de 2 kg.,2 d'écorce fraîche de *Philyrea latifolia* L. et nous avons extrait à l'alcool bouillant les deux hétérosides de la poudre. La solution alcoolique évaporée est reprise par l'eau de façon à obtenir un sirop fluide. On sature par l'éther ordinaire. La majeure partie du philyroside cristallise, ainsi qu'une grande partie du philéoside.

Onessore sur un filtre de BUCHNER. Les eaux-mères concentrées laissent déposer après repos une nouvelle quantité de produit qui contient très peu de philyroside ; il est constitué surtout par le philéoside, souillé par le mannitol.

Les eaux-mères qui ne cristallisent plus par repos, sont amenés à un volume de 1500 cm³ et déféqués par 250 cm³ d'extract de SATURNE au demi. Le filtrat, débarrassé de l'excès de plomb par précipitation à l'acide sulfhydrique et concentré en sirop, laisse déposer une petite quantité de philéoside.

Rendement. — 2 kg.,2 d'écorce fraîche recueillie fin août, nous ont fourni 18 g.,5 de produit brut, dont nous avons séparé 4 g.,2 de philyroside et 5 g. de philéoside impur. La teneur en hétéroside ainsi que la proportion entre les deux principes est variable suivant la saison de la récolte et l'âge du végétal, ainsi que nous l'avons pu constater au cours de diverses extractions.

Purification. — Pour isoler le philéoside du produit brut, on procède de la façon suivante :

Le produit est dissous dans 900 cm³ d'eau distillée. On fait bouillir avec du noir animal et on filtre bouillant, sur un entonnoir chauffé. Par refroidissement de la solution, la majeure partie du philyroside cristallise ; on le sépare et on distille à sec sous pression réduite les eaux-mères colorées légèrement en jaune. Le résidu de la distillation est épuisé par l'acétone anhydre pour le séparer du mannitol. Le produit est ensuite traité à plusieurs reprises par l'ester acétique anhydre. Un dernier traitement à l'eau nous a permis d'obtenir l'hétéroside pur.

Propriétés physiques. — Le philéoside cristallisé dans l'ester acétique et desséché dans le vide, se présente en belles aiguilles soyeuses très fines ; cristallisées dans l'eau, les aiguilles sont agglomérées et forment une poudre cristalline.

Le philéoside est inodore et incolore.

Il possède une saveur amère.

Desséché à poids constant, à + 65° dans le vide dans l'appareil de BOUILLOT, le philéoside perd 4,64 p. 100 d'eau de cristallisation, sans s'altérer.

Exposé à l'air, le produit purifié dans l'eau reprend une partie de son eau de cristallisation et jaunit légèrement. Le produit cristallisé dans l'ester acétique jaunit un peu, sans reprendre d'humidité.

Au bloc MAQUENNE, il se ramollit vers + 150° pour se solidifier ensuite ; sa fusion est complète vers + 182°.

Déshydraté, le produit cristallisé dans l'eau fond nettement à + 191°-192° ; cristallisé dans l'ester acétique, il fond à + 189°.

Il est lévogyre, Son pouvoir rotatoire déterminé en solution dans l'eau est de :

$$[\alpha]_D = -18.5 \quad (\rho = 0,1030 ; \nu = 10 ; e = 2 ; \alpha = -23').$$

Solubilités. — La solubilité du philéoside dans les différents solvants est déterminée à la température du laboratoire (19°-20°) par agitation d'un excès du corps finement pulvérisé avec les divers solvants.

100 g. de liquide dissolvent	Philéoside dissous
Eau distillée	0 g.,88
Alcool éthylique à 95°	0 g.,40
Acétone	0 g.,10
Ester acétique anhydre	0 g.,04

On peut exprimer les résultats sous la forme suivante :

1 g. de philéoside est soluble à 18°-19° dans :
113 g. d'eau distillée,
245 g. d'alcool éthylique à 95°,
981 g. d'acétone.
2692 g. d'ester acétique anhydre.

A chaud le philéoside est soluble dans l'eau en toutes proportions.

La solubilité de l'oside dans l'ester acétique, très faible à froid, croît également avec la température. A l'ébullition, il se dissout dans 300 cm³ d'ester acétique. La solution refroidie l'abandonne presque totalement. Nous nous sommes servi de cette propriété pour la purification de ce principe.

Propriétés chimiques. — Le philéoside est soluble dans le bicarbonate de sodium, dans la soude et dans l'ammoniaque.

Sa solution aqueuse est neutre aux réactifs colorés. Il ne présente pas de réactions colorées caractéristiques quand on le traite par la soude, l'ammoniac, le perchlorure de fer dilué.

Réaction de coloration. — Si on traite 5 mg. de philéoside par 2 cm³ d'acide sulfurique concentré, il se développe rapidement à froid une teinte bleu-violette passant au violet-pourpre. Une solution aqueuse ou alcoolique de l'hétéroside, additionnée d'acide sulfurique concentré, donne une liqueur bleue ; cette dernière diluée par l'eau, donne des flocons bleus-gris, solubles dans l'ammoniaque avec une couleur rouge.

L'acide nitrique dissout le philéoside à froid en se colorant en rouge-sang.

L'acide chlorhydrique additionné de phénol et de 5 mg. de philéoside donne une coloration bleu-vert.

Le philéoside est hydrolysé par l'acide sulfurique dilué et par l'émulsine des amandes.

Hydrolyse par l'acide sulfurique. — L'hydrolyse est effectuée en tube scellé, au bain-marie bouillant, avec l'acide sulfurique à 3 p. 100, sur une solution aqueuse de l'hétéroside à 1 p. 100 environ.

Le produit blanc dont on observe la formation au début de l'hydrolyse, se colore peu à peu en rose, puis en brun et se dé-

pose au fond du tube. Le liquide surnageant se colore faiblement en rose, à la suite de la dissolution partielle du produit non glucidique, attaqué au cours de l'hydrolyse acide.

Le philéol est séparé par filtration sur un creuset de GOOCH taré. Nous avons essayé de doser le philéol, mais nous avons obtenu des quantités très variables suivant le temps de l'hydrolyse.

Dans le filtrat nous avons dosé le sucre réducteur par la méthode de M. G. BERTRAND [5]. Nous avons obtenu les résultats suivants :

Durée de l'hydrolyse en heures	Philéoside anhydre pour 100 cm ³ en g.	S. R. formé p. 100 cm ³ en g.	Rotation $l = 2$	S. R. formé en g.
3/4	0,6830	0,277	+	40,55
1,00	0,8866	0,366	+ 26'	41,25
1 1/2	0,8066	0,349	+ 24'	43,30
2,00	0,7453	0,326	+ 20'	43,82
3,00	0,9640	0,422		43,70

L'hydrolyse du philéoside est terminée en deux heures.

Hydrolyse par émulsine. — L'hydrolyse est effectuée sur 2 g.,8309 de produit anhydre, dissous dans 300 cm³ d'eau toluénée. On ajoute 1 g. d'émulsine et on abandonne le flacon à l'étuve à + 32°, en agitant plusieurs fois par jour.

Les prises d'essai sont déféquées à l'extrait de SATURNE et au sulfate de sodium. Les dosages de sucre réducteur sont effectués par la méthode de M. G. BERTRAND. Le tableau suivant donne les résultats ramenés à 100 cm³ de liqueur primitive.

Durée d'hydrolyse	Rotation	S. R. formé p. 100 cm ³ en g.	S. R. formé p. 100 g. de produit anhydre en g.
7 jours	+ 10'	0,296	31,45
9 —	+ 12'	0,344	36,45
12 —	+ 12'	0,399	42,48
15 —	+ 13'	0,407	43,13
19 —	+ 13'	0,414	43,87

L'hydrolyse par l'acide sulfurique ayant donné 43,82 p. 100 de sucre réducteur, nous avons conclu que l'hydrolyse par l'émulsine était terminée. Nous verrons que l'hydrolyse acide ne donne pas le chiffre théorique.

Le précipité blanc qui s'est formé dans le liquide au cours de l'hydrolyse, contient le produit non glucidique mélangé à l'émulsine insoluble. Nous donnons plus loin (voir page 63) la méthode qui nous a servi pour isoler le philéol.

Etude des produits formés au cours de l'hydrolyse du philéoside : produits glucidique et non glucidique.

Le sucre de l'hydrolyse du philéoside. — Pour extraire le sucre formé par l'action de l'émulsine, nous avons opéré sur le liquide provenant de l'hydrolyse ci-dessus. Le pouvoir rotatoire du sucre formé au cours des hydrolyses diastasiques et acide est très voisin de celui de glucose.

Préparation d'une osazone. — On chauffe au bain-marie pendant une heure, dans un tube à essai, une goutte de sirop obtenu par évaporation de la solution aqueuse de sucre, avec 10 cm³ d'acétate de phénylhydrazine. L'osazone se dépose par refroidissement. Examinée au microscope, elle se présente en beaux cristaux disposés en branches de genêt, caractéristiques de la glucosazone.

Pour prouver la formation du glucose- α au cours de l'hydrolyse diastasique du philéoside, nous avons utilisé l'action synthétisante de l'émulsine en présence de l'alcool méthylique, afin d'obtenir la formation du méthylglucoside- β .

Nous avons opéré de la façon suivante : le liquide aqueux, débarrassé de l'aglycone par agitation à l'éther, est évaporé à sec ; le résidu est dissout dans 50 cm³ d'alcool méthylique à 70°. La solution est additionnée de 0 g.,30 d'émulsine et agitée à la roue hydraulique. On suit l'action de l'émulsine par les lectures polarimétriques

$$\text{Déviation initiale} = + 1^{\circ},20'$$

$$l = 2$$

$$\text{Déviation finale} = - 40'$$

$$l = 2$$

Extraction du méthylglucoside- β . — Pour extraire le méthylglucoside formé, nous avons procédé de la façon suivante : après avoir détruit l'émulsine, la solution filtrée est évaporée à sec ; le méthylglucoside est extrait par ébullition avec 50 cm³

d'alcool à 95°, pendant 20 minutes à reflux. On distille l'alcool et on reprend le résidu bien desséché par 20 cm³ d'ester acétique anhydre à 10 p. 100 d'alcool à 95°. La solution décantée cristallise sur amorce de méthylglucoside-β.

Après quelques jours de repos, le produit est recueilli sur un filtre de BUCHNER, lavé à plusieurs reprises par l'ester acétique anhydre et séché dans le vide sulfurique.

Identification. — Au microscope, il se présente en petits prismes rectangulaires, caractéristiques de méthylglucoside-β.

Sur le bloc MAQUENNE, il fond à + 104° + 105°.

Son pouvoir rotatoire, en solution dans l'eau est de :

$$[\alpha]_D = -31,57 \text{ (} p = 0,0792 \text{ ; } \nu = 10 \text{ ; } l = 2 \text{ ; } \alpha = -30^\circ \text{)}.$$

Ces constantes sont très voisines de celles du méthylglucoside-β, préparé par Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL [14] [15]. Par conséquent, le produit préparé par la synthèse biochimique à l'aide de l'émulsine est le méthylglucoside-β.

Le philéoside est donc bien dédoublé sous l'action de l'émulsine en donnant du glucose-d ; c'est un glucohétéroside-β.

B. Philéol. — Le produit de dédoublement non glucidique est attaqué au cours de l'hydrolyse acide. Préparé par hydrolyse à l'aide de l'acide sulfurique, il se présente sous l'aspect d'une masse vitreuse de couleur brun-rougeâtre, possédant une faible odeur et un goût rappelant celui de la vanilline. A l'air et dans le vide sulfurique il se colore peu à peu en vert-bleu. Nous l'avons préparé également par action de l'acide chlorhydrique à 5 p. 100 sur une solution du philéoside, en faisant chauffer pendant 5 minutes au bain-marie bouillant. Le produit blanc formé prend rapidement un aspect floconneux, grisâtre. Peu après il se rassemble au fond du ballon et se colore en rose quand on ajoute de l'eau. Il se dissout très facilement dans l'alcool en donnant un liquide fortement coloré en rose. Par addition d'eau il précipite sous forme d'une masse rose, facilement soluble dans l'ester acétique et l'acétone. Il n'est pas cristallisé. Il fond à + 204°.

L'hydrolyse diastique fournit le philéol sous forme d'une huile jaune qui se prend en masse sous l'amorce du produit préparé dans une opération précédente. Cependant nous n'avons pas pu observer des cristaux distincts au microscope. Nos essais de

cristallisations dans de différents solvants organiques sont restés vains.

Nous nous sommes servis du produit de l'hydrolyse fermentaire pour les opérations effectuées en vue de la détermination de la constitution chimique du philéol.

Préparation. — 3 g. de philéoside sont dissous dans 300 cm³ d'eau distillée toluénée. On ajoute 1 g. d'émulsine des amandes et on abandonne le flacon à l'étuve à 30°, en agitant fréquemment.

Après 15 jours, on verse le produit d'hydrolyse dans 400 cm³ d'alcool à 95° et on abandonne pendant 12 heures, en agitant de temps en temps, puis on chauffe légèrement. On essore sur un filtre de BUCHNER pour séparer l'émulsine, on lave avec de l'alcool et on distille à sec, sous pression réduite, à + 50°. Le résidu de la distillation est repris par l'éther ordinaire ; on sépare par décantation ; la couche éthérée est évaporée à sec. Elle permet d'isoler le philéol.

Propriétés physiques. — Le philéol se présente sous forme d'une masse jaune-clair qui devient verdâtre quand on la chauffe légèrement.

Au microscope, on n'observe pas de cristaux distincts. Il présente une légère odeur et saveur de vanilline.

Au bloc MAQUENNE, il fond vers + 110°. La fusion est précédée d'un ramollissement, le point de fusion n'est pas net.

Son action sur la lumière polarisée est nulle. Il est très peu soluble dans l'eau froide, plus soluble dans l'eau chaude et dans l'éther ordinaire. Il est très soluble dans l'alcool, dans l'ester acétique, l'acétone, le benzène et la pyridine.

Propriétés chimiques. — Le philéol réduit la liqueur cupro-alcaline. Son pouvoir réducteur est mesuré par la méthode de M. G. BERTRAND :

0 g.,0716 de philéol précipitent une quantité d'oxyde cuivreux correspondant à 15 mg.,6 de Cu, ce qui représente 7 mg.,6 de glucose. Un gramme de philéol réduit comme 10 g.,61 de glucose.

Il est soluble dans les alcalis, l'ammoniaque, le bicarbonate et le carbonate de sodium ; cependant il ne précipite pas sous l'action d'un acide.

La solution est neutre aux réactifs colorés.

Il ne présente pas de réaction colorée caractéristique quand on le traite par la soude, l'ammoniac et le perchlorure de fer dilué à froid. Ce dernier donne un précipité blanchâtre. Par chauffage, on obtient une coloration brun-rouge suivie d'une précipitation.

Traité par l'acide sulfurique concentré, le philéol donne une coloration rouge-violette. L'acide nitrique le dissout en se colorant en rouge-sang, l'acide chlorhydrique donne une coloration bleue. Le phénol en présence d'acide chlorhydrique additionnée d'une solution de philéol, se colore en rouge-violet. Le phloroglucinol provoque une coloration rouge amarante.

Analyse élémentaire et composition centésimale du philéoside. — Chauffé sur une lame de platine, le philéoside fond, charbonne et brûle sans laisser de résidu. La recherche de l'azote est négative. Il ne contient que du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène.

Les combustions effectuées par la méthode microchimique (1) donnent des résultats suivants :

Philéoside anhydre en mg.	CO ₂ en mg.	H ₂ O en mg.	C p. 100	H p. 100
4,293	8,510	2,720	54,06	6,51
3,810	7,525	2,240	53,81	6,53

Essais de détermination du poids moléculaire du philéoside.

— Nous avons essayé de déterminer le poids moléculaire du philéoside par cryoscopie. Cette réaction n'a pas donné des résultats satisfaisants. Comme nous l'avons déjà pu observer à propos de l'asébotoside (voir page 18), la cryoscopie ne semble pas être indiquée pour la détermination du poids moléculaire des hétérosides.

Méthode chimique. — Comme nous l'avons pu constater, le philéoside possède plusieurs fonctions méthoxyle. Nous avons dosé ces fonctions pour calculer le poids moléculaire de l'oside. Nous avons obtenu les résultats suivants :

I. — Méthode de ZEISEL.

Philéoside anhydre en g.	Poids de Ag. I en g.	Poids de OCH ₃ p. 100
0,1163	0,1488	16,84
0,0970	0,1286	17,50
0,1474	0,1673	15,05

(1) Les analyses sont effectuées par M. le docteur WEIL.

II. — *Microdosage par la méthode de PREGL.*

Philéoside anhydre en mg.	Poids de Ag. I en mg.	Poids de OCH ₃ p. 100
4,921	5,512	14,78

Comme on le voit, les résultats de ces dosages sont aberrants. Cela tient sans doute à la difficulté que nous avons observée pour la décomposition de ce produit par l'acide iodhydrique. Le résultat moyen de ces dosages est de 16,04.

Et en admettant 2 CH₃ nous avons calculé le poids moléculaire suivant :

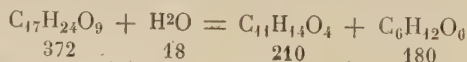
$$16,04 \longrightarrow 2 \text{ CH}_3; \text{ PM} = \frac{100 \times 62}{16,04} = 386$$

Formule. — En nous basant sur les données précédentes, nous proposons pour le philéoside la formule C₁₇H₂₄O₉.

	Trouvé en moyenne	Calculé pour C ₁₇ H ₂₄ O ₉
C p. 100.....	53,98	54,8
H p. 100.....	6,52	6,45
OCH ₃ p. 100.....	16,04	16,66
Poids moléculaire.....	386	372

Cette formule est celle du syringoside.

L'équation de l'hydrolyse du philéoside est :



D'après cette équation le philéoside fournit 48,38 p. 100 de sucre réducteur et 56,45 p. 100 de philéol. Nos hydrolyses nous ont fourni seulement 43,8 p. 100 de sucre réducteur en moyenne. En réalité la quantité de sucre réducteur est encore moins forte, puisque le philéol formé est réducteur lui-même. Il en reste une certaine quantité en solution ainsi que nous nous en sommes assurés en traitant le liquide par l'éther ordinaire : après l'évaporation de ce solvant, nous avons récupéré 6 p. 100 environ de philéol. Il peut de plus y avoir des réactions secondaires qui faussent le dosage.

L'hydrolyse diastasique du philéoside étant très lente, elle n'est peut être pas complète dans les conditions où nous avons opéré.

Poids moléculaire du philéol. — Nous avons essayé de déterminer le poids moléculaire du philéol par dosage des groupe-

ments méthoxyles, par la méthode de PREGL. Ces dosages n'ont pas donné des résultats satisfaisants.

Ne disposant que d'une quantité faible de philéol, nous n'avons pas pu essayer des méthodes physiques de détermination de poids moléculaire.

Analyse élémentaire et composition centésimale. — L'analyse est faite sur le produit anhydre, en tube ouvert, dans un double courant d'oxygène.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Philéol anhydre en g.	CO ₂ en g.	H ₂ O en g.	C p. 100	H p. 100
0,1427	0,3235	0,0870	61,79	6,83
0,1400	0,3220	0,0850	62,72	6,74

En se basant sur les résultats des combustions, on peut admettre pour le philéol la formule $C_{11}H_{14}O_4$.

	Trouvé en moyenne	Calculé p. $C_{11}H_{14}O_4$
C p. 100.....	62,25	62,85
H p. 100.....	6,78	6,66

Cette formule est en accord avec la formule du philéoside découlant des analyses précédentes.

Elle correspond à la formule du syringétol, calculée par G. KOERNER [43].

Recherche des groupements fonctionnels. — Ces recherches sont effectuées sur le philéol obtenu au cours de l'hydrolyse fermentaire du philéoside. Nous avons pu caractériser deux fonctions ester méthylique, deux fonctions oxhydyle, dont une fonction phénol libre, et une double liaison éthylénique. Les recherches des fonctions aldéhyde, cétone et carboxyle sont négatives.

Caractérisation de la fonction phénol. — 1° *Action des alcalis* : Le philéol est soluble dans la lessive de soude tandis qu'il est insoluble dans l'eau.

2° *Action de métavanadate d'ammonium* : Le philéol traité par une solution à 0,5 p. 100 de métavanadate d'ammonium dans l'acide sulfurique donne une coloration brun-verdâtre qui vire au brun-rouge après la neutralisation à la potasse.

3° *Diazotation* : Une solution alcaline de philéol traitée par une solution de diazobenzène et acidulée par l'acide chlorhydrique, donne naissance à un précipité brun.

Cette dernière réaction ainsi que le fait de l'absence de coloration par le perchlorure de fer dilué et la faible solubilité dans l'eau, sont en faveur d'une seule fonction phénol libre.

Nous avons dosé les oxhydryles du philéol par la méthode de Th. ZEREVITNOFF [75], à l'aide de l'iodure de méthylmagnésium, en présence de la pyridine comme dissolvant.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Philéol anhydre en g.	Volume du méthane à 0° et 760 mm. en g.	Oxhydryle p. 100		Nombre d'oxhydryle de la mol.	
		trouvé	calculé	trouvé	calculé
0,0860	16,04	14,25	16,18	1,76	2
0,0867	16,70	14,72		1,82	

Cette réaction nous permet d'affirmer la présence de deux oxhydryles libres dans la molécule du philéol.

Caractérisation des fonctions méthoxyle. — Nous avons déjà mentionné, à propos de l'analyse élémentaire (voir page 66), la caractérisation et les dosages des groupements méthoxyle.

Caractérisation d'une double liaison. — 1° Une solution aqueuse du philéoside est additionnée d'une petite quantité de bicarbonate de sodium ; on ajoute à la solution étendue de permanganate de potassium ; il se produit instantanément un virage en brun café et une précipitation d'hydroxyde de manganèse.

2° Le produit dissous dans le tétrachlorure de carbone, est additionné d'une goutte d'une solution de brome à 1 p. 100. Il se produit une décoloration de la solution bromée.

Fusion alcaline. — Cette réaction est réalisée dans les mêmes conditions que pour le philégénol (voir page 55).

Le mélange du philéol et de la potasse se colore en rouge-brun à froid. La masse en fusion devient jaune-clair, puis se colore fortement en brun.

On chauffe jusqu'à 260°-280° ; on laisse refroidir. Le produit de la fusion est dissout dans l'eau et acidulé par l'acide chlorhydrique au dixième. La solution acide est agitée avec l'éther. Après l'évaporation de ce dernier, on obtient une masse cristalline fortement colorée en brun, soluble dans l'alcool et l'eau. La solution aqueuse est acide au tournesol.

1° Le produit dissous dans l'eau et additionné de quelques gouttes de chlorure ferrique au dixième, donne une coloration vert-émeraude qui vire au violet quand on ajoute une solution de bicarbonate de sodium.

2° Dissous dans l'eau et additionné de 10 cm³ d'acétate de sodium à 10 p.100 le produit donne une coloration rougeâtre.

3° Le produit additionné d'anhydride phtalique et de quelques gouttes d'acide sulfurique et chauffé, donne une coloration rougeâtre.

Ces réactions indiquent la présence du pyrocatechol ou de l'un de ses homologues.

En examinant les résultats obtenus au cours de l'étude du philéoside, nous avons constaté une grande ressemblance entre les propriétés de ce principe immédiat et celles du syringoside (syringine). Le syringoside est l'hétéroside isolé en 1841 par I. J. BERNAYS [1] des feuilles de *Syringa vulgaris* L. (Oléacées) ; il est identique à la lilacine, extraite en 1842 par A. MEILLET [48] de la même plante.

Nous avons fait une étude comparative de quelques propriétés du philéoside et du syringoside.

Nous avons purifié le syringoside de la même façon que le philéoside et nous avons comparé quelques propriétés des deux hétérosides. Pour d'autres propriétés nous avons adopté comme terme de comparaison les résultats théoriques calculés pour le syringoside.

Notre étude nous a donné les résultats suivants :

Teneur en eau. — Dans l'appareil de BOUILLOT [9], dans le vide, à + 60°, pendant deux heures, le philéoside a perdu 4,60 p. 100 et le syringoside 4,61 d'eau, sans s'altérer.

Point de fusion. — Au bloc MAQUENNE, le philéoside anhydre fond à + 189° ; le syringoside à + 188° ; le mélange des deux fond à 188°-189°. Les points de fusion des produits hydratés sont respectivement de + 182° et de + 179°-180° ; le mélange fond à + 179°.

Pouvoir rotatoire. — Il est déterminé en solution aqueuse, sur les produits anhydre :

Philéoside	Syringoside
— 17°.50	— 17°.61
$p = 0,1042$; $\rho = 10$; $l = 2$; $\alpha = -22'$	$p = 0,1085$; $\rho = 10$; $l = 2$; $\alpha = -23'$

Les produits n'étant pas suffisamment solubles dans l'eau, nous avons opéré sur une solution peu concentrée. Nous étions donc dans de mauvaises conditions pour la détermination d'un pouvoir rotatoire.

Solubilité dans l'eau. — Cette réaction est effectuée en agitant les corps en excès avec de l'eau à la température du laboratoire. Les résultats obtenus sont de 0.88 pour le philéoside et de 0,90 pour le syringoside.

Réactions de coloration. — Philéoside et syringoside donnent les mêmes colorations avec des acides sulfurique, nitrique et chlorhydrique (seul et en présence de phénol).

Le produit de l'hydrolyse diastique du syringoside n'a pas été analysé jusqu'ici. Nous n'avons trouvé aucune indication sur ses constantes physiques et chimiques. G. KOERNER [43] signale seulement la grande facilité avec laquelle ce produit s'altère. Nous l'avons isolé et nous l'avons comparé avec le philéol. Nous avons trouvé une certaine différence entre les points de fusion de ces deux corps (vers $+ 110^{\circ}$ pour le philéol et vers $+ 130^{\circ}$ pour le syringétol). Cette différence s'explique sans doute par l'altération du produit que nous avons pu constater. Le philéol, préparé par hydrolyse acide, présente toutes les propriétés signalées par A. KROMAYRE pour le syringétol.

Composition centésimale	Trouvé pour philéoside	Théorie pour syringoside
C p. 100.....	53,70	54,8
H p. 100.....	6,51	6,45
OCH ₃ p. 100.....	16,04	16,66
Glucose p. 100.....	43,83	48,38
Poids moléculaire (d'après dosage méthoxyle).....	386	372
		Trouvé pour syringoside
Teneur en eau p. 100.....	4,60	4,61
Solubilité dans l'eau p. 100.....	0,88	0,90
Pouvoir rotatoire.....	— $17^{\circ},70$	— $17^{\circ},61$
Points de fusion	Mélange	
Anhydre.....	+ 189°	+ 188° - 189°
Hydraté.....	+ 182°	+ 179° + 179° - 180°

Réactions de coloration		
Acide sulfurique.....		rouge-violet
— nitrique.....		rouge-sang
— chlorhydrique.....		bleu
— — + phénol.....		bleu-vert
Composition centésimale		
	Trouvé pour philéol	Théorie pour syringétol
C p. 100	62,25	62,85
H p. 100	6,78	6,66
Points de fusion		
Hydrolyse acide.....	vers + 204°	+ 170°-180°
Hydrolyse diastique.....	vers + 110°	vers + 130°
Nombre hydroxyle.....	2 (v. p. 68)	2
Nombre méthoxyle.....	2 (v. p. 65)	2
Produit obtenu par fusion alcaline.....	homologue de pyrocatéchol	
Action de l'acide sulfurique.....	attaque du produit	

Etude des specres d'absorption [56]. — Ces déterminations sont faites dans les mêmes conditions pour les deux produits, sur une solution dans l'alcool à 95° à la concentration de N/200 et N/1000. Les résultats sont représentés par des courbes tracées portant en abscisses la longueur d'ondes et en ordonnées le logarithme du coefficient d'absorption. Les courbes sont reproduites sur la p. 72. Comme on le voit, elles sont parfaitement superposables.

En examinant ce tableau, on voit que les propriétés du philéoside concordent avec celles du syringoside. Seule la quantité de sucre réducteur formé au cours de l'hydrolyse diastasique ne concorde pas avec celle trouvée par VINTILESCO [73]. Cet auteur a pu hydrolyser complètement en 5 jours le syringoside par l'émulsine des amandes, tandis que nous n'avons obtenu que 43,83 p. 100 de sucre réducteur en 19 jours. Nous n'avons pu effectuer cette expérience sur le syringoside, ne disposant que de très faibles quantités de matière.

Nous avons essayé l'hydrolyse acide sur un échantillon du syringoside et nous n'avons obtenu que 40,2 p. 100 de sucre réducteur en deux heures de chauffage au bain-marie bouillant, avec de l'acide sulfurique à 3 p. 100. A. KROMAYER qui a analysé le premier le syringoside [44] [45] signale 38,54 p. 100 de sucre. Par conséquent, ce dosage n'est pas quantitatif dans les conditions où nous avons opéré et ne peut pas être considéré comme un terme de comparaison,

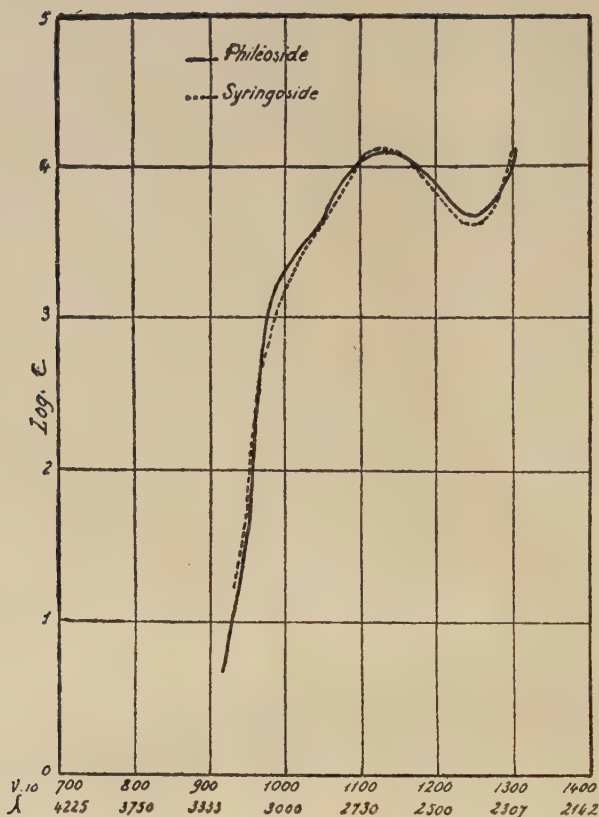
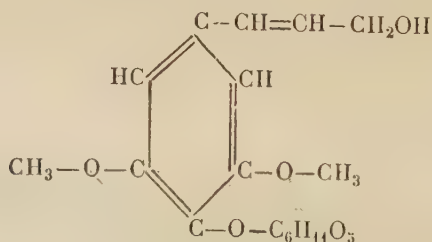


FIGURE III. — Philéoside et syringoside.

Nos expériences prouvent que le philéoside est identique au syringoside. La formule chimique de ce principe immédiat est représentée par la formule suivante :



Le nom du philéoside, introduit par nous pour la commodité de cet exposé, ne doit donc pas être conservé.

Le *Philyrea latifolia* L. renferme donc à côté du philyroside (philyrine de CARBONCELLI), du syringoside, principe très répandu dans la famille des Oléacées.

CONCLUSIONS.

Dans le présent travail nous avons poursuivi les recherches commencées par le Professeur M. BRIDEL sur divers hétérosides insolubles dans l'eau et considérés comme non hydrolysables par l'émulsine des amandes. Nos recherches ont porté d'abord sur l'asébotoside de *Kalmia latifolia* L. et ensuite sur le philyroside de *Philyrea latifolia* L.

L'hydrolyse de l'asébotoside par l'émulsine fut réalisée par M. BRIDEL en 1930.

Nous avons appliqué la méthode biochimique à l'invertine, l'émulsine et la rhamnodiastase à l'étude de divers organes frais de *Kalmia latifolia* L. Cette étude nous a permis de prouver que les racines, les bourgeons, les feuilles et les fleurs renferment du saccharose. L'émulsine provoque dans le cas des écorces et des rameaux un faible retour de la déviation vers la droite. L'indice de réduction enzymolytique est respectivement de 180 et de 166, très éloigné de celui de l'asébotoside. Dans le cas des fleurs et des feuilles, les liquides d'essai ont laissé cristalliser de l'asébotoside. Les essais sont effectués sur les liqueurs filtrées. Le retour de déviation, par l'émulsine, est très faible dans le cas des feuilles ; dans les fleurs, il est considérable. L'indice de réduction dans les deux cas est de 640.

L'étude de l'asébotoside n'ayant été qu'ébauchée par les précédents auteurs, nous en avons fait une étude complète qui a donné les résultats suivants :

L'asébotoside cristallise en prismes allongés, transparents. Il renferme 7,1 p. 100 d'eau de cristallisation. Son pouvoir rotatoire, en solution dans l'alcool à 50°, est de $[\alpha]_D = -58^{\circ},26$ (anhydre).

Il fond nettement au bloc MAQUENNE à $+ 137^{\circ},5$ (anhydre).

Il est hydrolysé par l'acide sulfurique et par l'émulsine en donnant 42 g.,46 p. 100 de glucose et 62 g.,90 p. 100 de produit non glucidique cristallisé, l'asébogénol.

L'asébotoside répond à la formule $C_{21}H_{24}O_{10}$.

L'asébogénol cristallise en aiguilles brillantes, à saveur un peu sucrée. Il fond à $+ 274^{\circ}$. Il répond à la formule $C_{15}H_{14}O_5$.

La formule brute de l'asébotoside est la même que celle du phlorizoside. Les produits glucidique et non glucidique obtenus par hydrolyse des deux hétérosides sont les mêmes. L'hydrolyse barytique effectuée sur l'asébogénol, donne du phloroglucinol et de l'acide *p*-hydrocoumarique. Le phlorétol dans les mêmes conditions fournit les mêmes produits.

Nous avons effectué une étude comparative complète de l'asébotoside et du phlorizoside. Cette étude nous prouve d'une façon indiscutable l'identité complète des deux principes.

Le phlorizoside ayant été découvert et étudié le premier, on doit conserver ce nom ; le nom d'asébotoside doit disparaître de la nomenclature chimique.

Il est intéressant de faire ressortir que le phlorizoside qui jusqu'ici était regardé comme un principe spécifique de l'écorce d'un certain nombre des Rosacées, existe également dans les feuilles et les fleurs de deux plantes de la famille des Ericacées.

L'étude biochimique de *Philyrea latifolia* L. montre que les rameaux et les feuilles renferment du saccharose et une forte proportion de principes hydrolysables par l'émulsine. Plusieurs essais d'extraction, effectués sur les rameaux, nous ont démontré la présence de deux hétérosides. Nous avons séparé les deux principes et nous les avons obtenus à l'état pur. D'après les constantes physiques et chimiques, nous avons pu caractériser le philyroside (philyrine), découvert par CARBONCELLI. Le deuxième hétéroside n'avait pas été avant nous extrait de *Philyrea*. Nous l'avons provisoirement désigné sous le nom de philéoside et nous l'avons identifié ultérieurement au syringoside.

Le philyroside cristallise en tablettes réfrigérentes. Il renferme 4,76 p. 100 d'eau de cristallisation. Il est *dextrogyre*. Son pouvoir rotatoire, déterminé en solution dans l'alcool à 95° , est de $[\alpha]_D = + 46^{\circ},71$ (anhydre).

Il fond nettement à 162° .

L'hydrolyse sulfurique fournit 33 g.,92 p. 100 de glucose et un aglycone, le philygénol qui est attaqué dans ces conditions.

BERTAGNINI et LUCA ont trouvé que le philyroside n'est pas hydrolysé par l'émulsine alors que la fermentation lactique le dédouble facilement. Nous avons repris ces expériences et nous avons prouvé que le philyroside est complètement hydrolysé par l'émulsine des amandes. Cette hydrolyse fournit 33 g.,89 p. 100

de glucose et 69 g.,74 p. 100 de philygénol, très pur et cristallisé.

Le philyroside est également hydrolysé par la poudre fermentaire d'*Aspergillus niger*. L'hydrolyse est très rapide et le produit non glucidique formé est identique au philygénol obtenu par action de l'émulsine.

Par contre, le philyroside n'est hydrolysé ni par la levure basse séchée à l'air, ni par le ferment lactique.

Le philyroside répond à la formule $C_{27}H_{34}O_{11}$ qui est celle, proposée par C. BERTAGNINI et G. LUCA.

Le philygénol préparé, par hydrolyse diastasique cristallise en petits prismes rectangulaires, très aplatis. Il est légèrement amer. Au bloc MAQUENNE il fond à $+ 134^{\circ},5$. Il répond à la formule $C_{21}H_{24}O_6$, qui est en accord avec la formule établie par BERTAGNINI et LUCA.

La formule $C_{27}H_{34}O_{11}$ pour l'hétéroside et celle de $C_{21}H_{24}O_6$ pour le produit non glucidique se trouvent ainsi confirmées. La formule proposée par EYKMAN doit être définitivement rejetée.

De plus, nous avons pu caractériser une fonction phénol libre et trois fonctions ester méthylique. Nous n'avons décelé aucune des fonctions aldéhyde, cétone, carboxyle, double et triple liaisons.

La fusion alcaline du philygénol nous a permis d'isoler une petite quantité d'acide protocatéchique. Nous l'avons obtenu à l'état pur, et nous l'avons caractérisé par ses propriétés physiques et chimiques.

Nous n'avons pas pu établir définitivement la constitution complète du philygénol.

L'étude du « philéoside » nous a donné les résultats suivants :

Il cristallise en belles aiguilles soyeuses, transparentes. Il renferme 4,60 p. 100 d'eau de cristallisation. Son pouvoir rotatoire, en solution aqueuse, est de $- 17^{\circ},5$ (calculé pour le produit anhydre).

Il fond au bloc MAQUENNE à $+ 189^{\circ}$ -190 (anhydre).

Il est hydrolysé par l'acide sulfurique et par l'émulsine des amandes en donnant 43,83 p. 100 de glucose. L'aglycone, le philéol, est attaqué au cours de l'hydrolyse acide. Le philéoside répond à la formule $C_{17}H_{24}O_9$.

Le « philéol » se présente sous la forme d'une masse jaune, dans laquelle le microscope ne révèle pas de cristaux bien for-

més. Son point de fusion n'est pas net. Il répond à la formule $C_{11}H_{14}O_4$.

La formule brute du philéoside est la même que celle du syringoside. Par hydrolyse, ces deux glucosides donnent du glucose-*d*. De même, les produits non glucidiques n'accusent pas de différences marquées. La fusion alcaline effectuée sur le philéol, fournit un homologue du pyrocatéchol. Le syringétol, dans les mêmes conditions, donne le même produit.

Nous avons effectué une étude comparative de quelques propriétés du philéoside et du syringoside. Cette étude nous prouve l'identité des deux principes.

Le *Philyrea latifolia* L. renferme donc, à côté du philyroside, du syringoside, principe très répandu dans la famille des Oléacées.

BIBLIOGRAPHIE.

1. F. J. BERNAYS. — Ueber einen neuen kristallisierbaren Pflanzenstoff, das Syringin, aus der *Syringa vulgaris*. *Repert. für die Pharm. Büchner* (II), 1841, 74, 348.
2. C. BERTAGNINI. — Sur la philyrine, *Ann. de Chim. et de Phys.*, (3) 1855, 43, 351, ; *Journ. Pharm.*, (3), 1855, 158.
3. C. BERTAGNINI. — Ueber das Philyrin. *An.*, 1854, 92, 109.
4. C. BERTAGNINI et G. LUCA. — Recherches sur la constitution chimique de la phillyrine. *C. R.*, 1860, 51, 368. *An. der Chemie u. Pharm.*, 1861, 118, 124.
5. G. BERTRAND. — Sur le dosage des sucres réducteurs. *Bull. Soc. Chim.*, 1906, 35, 1285-1299.
6. G. BERTRAND. — Sur quelques réactions colorées des hydrates de carbone. *Bull. Soc. Chim.* (3), 1891, 6, 259-261.
7. G. BERTRAND. — Rectification au mémoire de M. P. Thomas sur une nouvelle réaction des Pentoses. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1925, 7, 437-439.
8. J. BOUGAULT. — Oxydation de l'anéthol et des composés analogues à chaîne latérale propylénique. Thèse Doct. Sc, ch. III, Paris, 1902, 16-25.
9. J. BOUILLOT. — Appareil de laboratoire permettant de dessécher des matières organiques sans les altérer. *Bull. Soc. Chim. bio.*, 1923, 5, 268.
10. Em. BOURQUELOT. — Recherche dans les végétaux du sucre de canne à l'aide de l'invertine et de glucosides à l'aide de l'émulsine. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1901, 14, 481.
11. Em. BOURQUELOT. — Sur la recherche dans les végétaux, des glucosides hydrolysables par l'émulsine. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 23, 1906, 369.
12. Em. BOURQUELOT. — Remarques sur la méthode biochimique de recherche des glucosides hydrolysables par l'émulsine. *C. R.*, 1920, 171, 423.
13. Em. BOURQUELOT. — Nouvelle contribution à la méthode biochimique de recherche, dans les végétaux, des glucosides hydrolysables par l'émulsine ; son application à l'étude des plantes employées en médecine populaire. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, (1910) 2, 241.

14. Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL. — De l'action hydrolysante et de l'action synthétisante de l'émulsine dans l'alcool méthylique. Obtention de méthylglucoside β . *J. de Pharm. et de Chim.*, 1912, 6, 56.
15. Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL. — Synthèses de glucosides d'alcools à l'aide de l'émulsine. Méthylglucoside- β éthylglucoside- β , propylglucoside- β . *Journ. de Pharm. et de Chim.*, (7), 1912, 6, 97.
16. E. BOURQUELOT, H. HÉRISSEY et M. BRIDEL. — Synthèse de glucoside- α à l'aide de la glucosidase- α — enzyme contenu dans la levure basse séchée à l'air. Méthylglucoside- α et éthylglucoside α . *Journ. de Pharm. et de Chim.*, (7), 1913, 7, 145-155.
17. Em. BOURQUELOT et Mlle FICHTENHOLZ. — Application de la méthode biochimique à l'étude des feuilles de *Kalmia latifolia* L. Obtention d'un glucoside. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, (7), 1912, 5, 49-58.
18. Em. BOURQUELOT et Mlle FICHTENHOLZ. — Identification du glucoside des feuilles de *Kalmia latifolia* L., avec l'asébotine. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, (7), 1912, 5, 296-300.
19. M. BRIDEL. — Sur l'hydrolyse par l'émulsine de deux glucosides considérés comme non hydrolysables par ce produit fermentaire : asébotoside (asébotine) et phlorizoside (phlorizine). *Bull. Soc. Chim. biologique*, 1930, 12, 321 ; *Journ. de Chim. et Pharm.* (8), 1930, 12, 385.
20. M. BRIDEL et Mlle A. KRAMER. — Sur la constitution de l'asébotoside (asébotine) et son identité avec le phlorizoside (phlorizine). *C. R.*, 1931, 193, 748.
21. M. BULLOCK. — On *Kalmia latifolia*. *The american journ. of Pharm.*, 1848, 20, 260.
22. CARBONCELLI. — Das Phillyrin in u. dessen Gewinnung aus der Rinde u. Blätter der Steinlinde. *Repert. für die Pharmacie* (2), 1836, 58, 323. *Gaz. ecclettica di Chim.*, nov. 1836
23. CARBONCELLI. — Das Phillyrin, eine Pflanzensubstanz aus der Steinlinde (*Phillyrea latifolia*) *An.*, 1837, 24, 242.
24. M. CREMER et R. W. SEUFFERT. — Ueber Phlorin, ein Spaltungsprodukt des Phlorizins. *Ber.*, 1912, 45, 2565-2571.
25. R. DELABY et Y. BREUGNOT. — Sur la détermination rapide de l'indice d'acétyle. *Bull. de pharmacol.*, 1932, 39, 345.
26. O. L. ERDMANN et R. F. MARCHAND. — Ueber die Zusammensetzung des Salicins und des Phloridzins. *Journ. für prakt. Chim.*, 1838, 15, 302-307.
27. J. F. EYKMAN. — Sur quelques Oléacées japonaises. *Rec. Trav. Chim. Pays Bas*, 1886, 5, 127, 130.

28. J. F. EYKMAN. — Sur les principes de l'*Andromeda japonica* Thumb. *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, 1883, **2**, 99-102.
29. E. FISCHER. — Ueber die Verbindungen des Phenylhydrazins mit den Zuckerarten, III. *Ber.*, 1888, **21**, 988-991.
30. Em. FISCHER et O. NOURRI. — Synthese des Phloretins und Darstellung der Nitrile von Phenolcarbonsäuren. *Ber.*, 1917, **50**, 611-623.
31. Em. FISCHER et H. STRAUSS. — Synthese einiger Phenolglucoside. *Ber.*, 1912, **45**, 2474.
32. H. HESSE. — Ueber Phlorose. *An.*, 1873, **192**, 173-175.
33. H. HÉRISSEY. — Recherche sur l'émulsine. Thèse Doct. Univ. Pharm. Paris, 1889.
34. H. HLASIVETZ. — Ueber das Phloretin. *An.*, 1885, **96**, 118-123; *Journ. Prakt. Chemie*, 1856, **67**, 105-126.
35. H. HLASIVETZ. — Ueber Phloretinsäure. *An.*, 1857, **102**, 145-179.
36. H. HLASIVETZ. — Ueber das Phloroglucin. *An.*, **119**, 199.
37. H. HLASIVETZ. — Ueber Hydrocaffée u. Hydrocoumarsäure. *An.*, 1867, **142**, 358-359.
38. H. HLASIVETZ et PFAUNDLER. — Jahresberichte über die Fortschritte der Chemie, 1864, 564.
39. F. R. JOHNSON et A. ROBERTSON. — Natural glucosides Part. I. The Constitution of Phloridzin. *Journ. Chim. Soc.*, 1930, 21-26.
40. J. KENNEDY. — Arbutin in *Kalmia latifolia*. *Am. J. of Ph.*, 1875, **47**, 5.
41. L. DE KOENIGCK. — Ueber das Phloridzin. *An.*, 1835, **15**, 75-77.
42. L. DE KOENIGCK. — Weitere Notiz über das Phloridzin. *An.*, 1836, **15**, 258-263.
43. G. KOERNER. — In forno alla siringina un glucoside della siringa vulgaris. *Gazz. Chim. Ital.*, 1888, **18**, 209.
44. A. KROMAYER. — Siringin in der Rinde von *Ligustrum vulgare*. *Arch. der Pharm.*, 1863 (2), **113**, 19.
45. A. KROMAYER. — Ueber das Siringin. *Arch. der Pharm.*, 1862 (2), **109**, 18.
46. LIEBERMANN. — Ueber die Einwirkung der Salpetrigen Säure auf Phenole. *Ber.*, 1874, **7**, 247.
47. J. v. LIEBIG. — Ueber die Zusammensetzung des Phloridzins und seiner Zersetzungsprodukte. *An.*, 1839, **30**, 217-223.
48. A. MEILLET. — Extraction de la lilacine, principe amer cristallisé du lilas (*syringa vulgaris*). *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1842, (nouvelle série), **1**, 25.
49. G. J. MULDER et O. L. ERDMANN. — Ueber Phloridzin und Salicin. *Journ. prakt. Chemie*, 1839, **17**, 299.
50. G. J. MULDER. — Ueber Phloridzin u. Salicin. *Journ. prakt. Chemie*, 1844, **32**, 330.

51. R. E. MARCHAND. — Ueber die Zusammensetzung des Salicins, u. Phloridzins. *Journ. prakt. Chemie*, 1839, **17**, 306.
52. E. A. MOELWYN-HUGHES. — The Enzymic hydrolysis of Phloridzin. *J. of gen. Physiol.*, 1930, **13**, 807.
53. J. LOEWE. — Ueber Phloridzin und Phloretin *Fr. Zeitsch. anal. Chem.*, 1876, **15**, 28.
54. OTTO. — Ueber Zusammensetzung des Salicins. *An.*, 1839, **29**, 294-300.
55. Ch. PETTERSEN. — Analyse des Phloridzins. *An.* 1835, **15** 178.
56. Mme RAMART LUCAS. — Relation entre la structure des molécules organiques et leur spectre d'absorption dans l'ultra-violet. *Bull. de la Soc. Chim.*, (4), 1932, **51**, 289.
57. E. R. RENNIE. — Phlorizin. *Journ. Chem. Soc.*, **51**, 634.
58. K. W. ROSENMUND, M. ROSENMUND. — Ueber die Synthese des Naringins und Phloretins. *Ber.*, 1928, **61**, 2608-2612.
59. G. ROSER. — Ueber das Phloridzin, *An.* 1850, **74**, 178-184.
60. M. W. RUSSELL. — Sur la présence constante de la syringine chez les Olées. Association française pour l'Av. Sc., 36^e session, 1907, 520.
61. Fr. ROCHLEDER. — Ueber Isophloridzin. *Zeitschr. für Chem.*, 1868, 711.
62. H. SCHIFF. — Spaltung der Glucoside durch Ueberhitzung, *Ber.*, **14**, 1881, 303.
63. H. SCHIFF. — Ueber sogenanntes Isophloridzin. *An.*, 1885, **229**.
64. H. SCHIFF. — Derivate des Phloretins *An.*, **172**, 356.
65. H. SCHIFF. — Constitution des Phloridzins. *An.*, 1870, **156**, 1.
66. O. SCHMIDT et U. O. HESSE. — Notiz über Phloretin. *An.*, 1869, **119**, 103.
67. E. SCHUNCK et L. MARCHLEWSKI. — Studien über einige natürliche Zuckerarten. *An.*, 1893, **278**, 349-359.
68. R. H. STABLER. — On *Kalmia Latifolia* L. *Am. Journ. of Pharm.*, **16**, 1845, 240-246.
69. J. STASS. — Chemische Untersuchungen über das Phloridzin. *An.*, 1839, **30**, 192-216; *Journ. für prakt. Chemie*, **17**, 273-298; *An. de Chim. et de Phys.*, 1838, 367.
70. S. STÖHR. — Ueber Hydroparacoumarinsäure. *An.*, 1884, **225**, 57-94.
71. STRECKER. — Notiz über die chem. Formel des Phloridzins. *An.* 1850, **74**, 184-188.
72. P. TRINIUS. — Ueber Derivate der Hydratropasäure u. der Künstlichen Bildung der Phloretinsäure. *An.*, 1884, **227**, 262-277.
73. J. VINTILESCO. — Recherche et dosage de la syringine dans les différents organes des lilas et des troënes. *Journ. Pharm. et Chim.*, (6), 1906, **24**, 145, 529.

74. A. VERLEY et J. BOELSING. — Ueber quantitative Esterbildung und Bestimmung von Alkoholen resp Phenolen. *Ber.*, 1901, 34, 3354-3358.
- 75 Th. ZEREWITINOFF. — Quantitative Bestimmung von Hydroxylgruppen mit Hilfe magnesiumorganischen Verbindungen. *Ber.*, 1907, 40, 2023.
-

DEUXIEME THESE.

Proposition donnée par la Faculté :

Structure physique de la membrane cellulaire.

Vu et approuvé :

Paris, le 13 Janvier 1933.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,
Ch. MAURAIN.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY.

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE L. DECLUME, LONS-LE-SAUNIER
